Dezembro de 1953

Tomo 51

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

1 9 5 3
SERVIÇO GRÁFICO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA
RIO DE JANEIRO

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
10 NOV 1954

As **MEMÓRIAS**, órgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, são reservadas, exclusivamente, à publícação de trabalhos nêle realizados, e aparecerão em fascículos em Março, Junho, Setembro e Dezembro ou em tomos completos, conforme as conveniências editoriais.

Tôda a correspondência deverá ser à:

REDAÇÃO DAS MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926 – ENDERÊÇO TELEGRÁFICO: "MANGUINHOS", RIO
RIO DE JANEIRO – BRASIL

MEMÓRIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Dezembro de 1953

Tomo 51

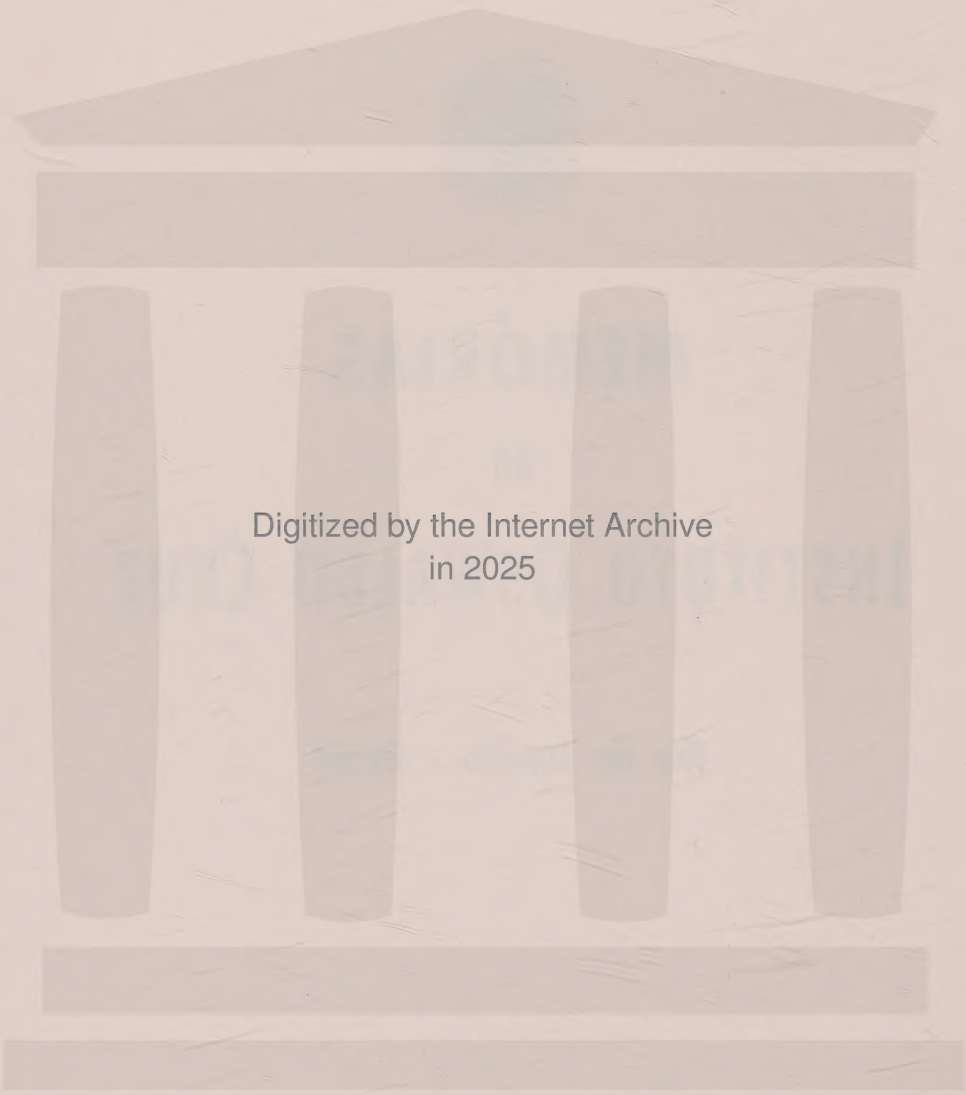
MEMÓRIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

RIO DE JANEIRO
SERVIÇO GRÁFICO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA
1 9 5 4



Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/memorias-do-instituto-oswaldo-cruz_1953-12_51

Índice

Tomo 51 — Dezembro de 1953

	Páginas
ARAGÃO, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE — Carlos Chagas Diretor de Manguinhos	1/10
ARAGÃO, HENRIQUE B. e FONSECA, FLAVIO DA — A propósito da validade de algumas espécies do gênero Amblyomma do continente Americano (Acari: Ixodidae)	485/492
ARAGÃO, HENRIQUE B. e FONSECA, FLAVIO DA — VII-Otocentor nitens Neumann, 1897, versus Anocentor columbianus Schulze, 1937 e comentários sôbre a rápida disseminação dêsse Ixodideo no Brasil (Acari: Ixodidae)	499/502
BARTH, RUDOLF — Estudos anatômicos e histológicos sôbre a Subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae) — III parte: Pesquisas sôbre o mecanismo da picada dos Triatominae	11/68
BARTH, RUDOLF — Anatomische und histologische Studien ueber die Unterfamilie Triatominae (Heteroptera, Reduviidae) — III Teil: Untersuchungen ueber den Stechvorgang bei Triatominae	69/94
BARTH, RUDOLF — Métodos de trabalho na Anatomia e Histologia Entomológica	95/139
BARTH, RUDOLF — Arbeitsmethoden der entomologischen Anatomie und Histologie	140/186
BARTH RUDOLF — Considerações gerais sôbre os órgãos odoríferos sexuais dos machos dos Lepidópteros	187/198
BARTH, RUDOLF — Allgemeine Betrachtungen ueber die maenlichen Sexualduftorgane der Lepidoptera	199/202
BARTH, RUDOLF — O órgão odorífero abdominal do macho de Caligo arisbe HBn. (Lepidoptera, Brassolidae)	203/219
BARTH, RUDOLF — Das abdominale Duftorgan des Maenchens von Caligo arisbe Hbn. (Lepidoptera, Brassolidae)	220/226
BARTH, RUDOLF — Órgãos odoríferos masculinos de algumas Syntomidae Brasileiras (= Ctenuchidae; Lepidoptera)	227/251
BARTH, RUDOLF — Maennliche Duftorgane einiger brasilianischer Syntomidae (= Ctenuchidae)	252/262
BARTH, RUDOLF — Estudos sôbre as placas das glândulas de cêra da lagarta de Tolype serralta (Lepidoptera, Lasiocampidae)	263/271

Páginas

BARTH, RUDOLF — Untersuchungen an den Wachsdrusenplatten der Raupe von Tolype serralta (Lepidoptera, Lasiocampidae) .. 272/276

DUCKE, A. — As leguminosas de Pernambuco e Paraíba 417/462

FONSECA, FLAVIO DA e ARAGÃO, HENRIQUE B. — VI — Descrição da fêmea de Amblyomma Multipunctum Neumann 1899 e redescrição do macho (Acari: Ixodidae) 493/498

FONTANA, PEDRO — Considerações sôbre a dosagem do nitrogênio pelo método de Kjeldahl 277/288

MAGALHÃES, OCTAVIO DE — Contribuição ao conhecimento do tifo exantemático neotrópico no Brasil 463/474

MAGALHÃES, OCTAVIO DE — Contribuição ao conhecimento da melhor terapêutica curativa do tifo exantemático no Brasil (doença de Piza, Meyer e Gomes) 475/484

MENDONÇA, J. MACHADO DE — Heterakis isolonche Linstow, 1906 e Heterakis gallinae (Gmelin, 1790), agentes causais da Tiflite verrucosa em faisões no Jardim Zoológico do Distrito Federal 675/704

OLIVEIRA, LEJEUNE P. H. DE — Crustacea Amphipode do Rio de Janeiro 289/376

OLIVEIRA, LEJEUNE P. H. DE; KRAU, LUIZA e NASCIMENTO, RUBEM DO — Observações hidrobiológicas na cisterna da Ilha do Pinheiro 377/416

OLIVEIRA, LEJEUNE DE e KRAU, LUIZA — Levantamento biogeográfico da Baía de Guanabara 503/544

PELLEGRINO J. e REZENDE, CELSO LOBO DE — A doença de Chagas na infância 545/610

PELLEGRINO, J. — A doença de Chagas em Minas Gerais — Esbôço crítico dos trabalhos publicados até 1951 ..... 611/668

ROCHA LAGÔA, DR. F. — Multiplicações celulares e tumores induzidos por virus 705/730

ROCHA LAGÔA, DR. F. — Estudos sôbre o complemento. I — Ação das radiações de Roentgen e ultravioleta 731/740

ROCHA LAGÔA, DR. F. — Varíola (Alastrim) no Paraguai. Contrôle do surto epidêmico de 1947 em comparação com a febre tifóide, o tétano e a difteria 741/750

ROCHA LAGÔA, DR. F. — Smallpox (Alastrim) in Paraguay. Control of the 1947 Epidemic as Compared with Typhoid Fever, Tetano and Diphteria 751/752

ROCHA LAGÔA, DR. F. e CARDOSO, H. T. — Estudos sôbre o complemento. II — Análise eletroforética do complemento inativado pelas radiações ultravioleta 669/674

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 51 dezembro de 1953

Carlos Chagas, Diretor de Manguinhos

por

Henrique de Beaurepaire Aragão

Em conseqüência da morte de Oswaldo, em 1917, estabeleceu-se em Manguinhos o problema da sua substituição em caráter duradouro.

A princípio, quando Oswaldo se ausentava, seu substituto era Figueiredo de Vasconcellos por ser o mais antigo, porém, depois da reforma por que passou o Instituto em 1908, a substituição do Diretor passou a ser feita pelos Chefes de Serviço e, na falta dêstes, por um dos assistentes, alternando-se mensalmente. Esta alternância nas substituições estabelecida por Oswaldo apresentava a vantagem de fazer com que aquêles que as alcançavam pudessem ir-se inteirando dos variados problemas administrativos do Instituto.

Não tínhamos dúvidas que a sucessão do Mestre viesse caber a um dos discípulos mais antigos, da primeira hora para bem dizer, e assim, sucedeu, escolhendo o Govêrno a Carlos Chagas, discípulo dileto, que então ocupava o pôsto de Chefe de Serviço desde que Rocha Lima deixara o Instituto em 1910, para trabalhar em instituições científicas alemãs.

Carlos Chagas possuia grandes credenciais para o pôsto para o qual fôra escolhido devido às suas valiosas atividades científicas em variados assuntos de parasitologia, profilaxia do paludismo e sobretudo, pela descoberta da tripanossomíase humana denominada Moléstia de Chagas.

Dirigiu os destinos do Instituto de 14 de fevereiro de 1917 a 8 de novembro de 1934, data em que veio a falecer sùbitamente em conseqüência de um mal arterial que há algum tempo lhe minava a existência.

A personalidade de Carlos Chagas era grandemente diversa da de Oswaldo, em virtude de ser dotado de um temperamento combativo, imaginação viva, e um espírito em constante vibração sempre pronto a defender com veemência e tenacidade suas idéias e teorias.

Era possuidor de palavra fácil e eloqüente sendo por isso muito apreciado seus discursos em congressos e conferências acadêmicas, assim como suas preleções nos cursos de Manguinhos e na Faculdade de Medicina na qual veio a ocupar, com brilhantismo a cátedra de Medicina Tropical. Integrou-se Carlos Chagas ràpidamente em sua elevada missão de conduzir a instituição perfeita e acabada que Oswaldo nos legara, seguindo fielmente os rumos com que seu criador a idealizara e orientara com tanto saber enquanto suas fôrças o permitiram e, obediente às acertadas normas e tradições, tratou logo de dar maior amplitude às atividades do Instituto, que Oswaldo desejara cada vez mais engrandecido e prestigiado.

Uma das suas primeiras iniciativas foi a de atrair para Manguinhos alguns elementos de valor já anteriormente comprovado e também outros mais jovens e menos experientes cujas qualidades para a pesquisa já se tinham revelado na feitura de teses e nos cursos de Manguinhos.

Entre elementos já categorizados selecionou com acêrto: Eurico Villela seu antigo companheiro em Lassance, professor e clínico de muito saber, que veio dirigir nosso Hospital de Doenças Tropicais, já em pleno funcionamento; José Carneiro Felipe, químico e físico de notável cultura e grande renome nos meios científicos nacionais; Miguel Osório de Almeida, fisiologista consagrado há muito no Brasil e no estrangeiro, por seus trabalhos originais e, finalmente, Leocádio Chaves colaborador dos melhores de Oswaldo nas suas campanhas sanitárias no Rio e na Amazônia e igualmente um dos colaboradores de Chagas em Lassance.

Por ocasião da reforma do Instituto em 1919, Leocádio Chaves passou a ocupar o árduo pôsto de Secretário do Instituto, cargo em que se manteve por 24 anos prestando ao Instituto os mais relevantes serviços de ordem geral, além de ter sido o substituto de Chagas em varias das suas ausências. Graças ao seu espirito equilibrado, tolerante, conciliador, e elevada cultura teve Leocádio em várias ocasiões uma ação tão útil quão decisiva para dirimir as dificuldades e solucionar os problemas da Diretoria, tanto de ordem interna como aquêles relativos ao Govêrno, muitas vêzes, bastante complexos, êstes, sobretudo depois de 1930.

Por suas excelentes qualidades, Leocádio Chaves desfrutou sempre de grande consideração por parte de todos e, seus prestimosos serviços à boa marcha da Instituição, merecem os mais justos louvores aqui, e jamais poderão ser esquecidos.

Entre os elementos mais jovens admitidos por Carlos Chagas no início da sua administração até 1921, contavam-se Antônio Luiz de Barros Barreto, Olympio da Fonseca atual diretor do Instituto, Oscar d'Utra e Silva, Carlos Burle de Figueiredo, Cássio Miranda atual substituto do diretor, Antônio de Arêa Leão, Heraclides Cesar de Souza Araújo, Genésio Pacheco, Cesar Pinto, José da Costa Cruz, Oswino Penna, Paulo Proença, Arminio Fraga, Herbster Pereira e Aroeira Neves. Vários dêstes ainda trabalham dedicadamente no Instituto.

Em 1921 com a transferência do antigo Instituto Vacínico do Barão de Pedro Affonso para Manguinhos vieram fazer parte do nosso quadro de pesquisadores Paulo Affonso Franco, Jorge Affonso Franco, Silvino Pereira, José Caracas e Antônio Pinheiro de Ulhoa Cintra êste último conceituado discípulo do Instituto Bacteriológico de São Paulo e diretor por algum tempo do Instituto de Butantan. Dêste grupo só ficaram no Instituto os dois irmãos Franco, sendo os demais designados para trabalhar como técnicos do Instituto Bacteriológico da Saúde Pública, repartição reorganizada por Carlos Chagas ao tempo em que foi Diretor do Departamento Nacional de Saúde Pública.

Em 1924 foi contratado para trabalhar em Manguinhos um elemento muito valioso o Dr. Ernesto de Souza Campos, formado em São Paulo, que se especializara nos Estados Unidos em assuntos de Bacteriologia e Patologia, ramos em que se aplicou com notável sucesso em nossos laboratórios. Deixou o Instituto para assumir a Cadeira de Bacteriologia da Faculdade de Medicina de São Paulo fazendo alí também brilhante carreira em atividades ligadas ao ensino e especializando-se em problemas hospitalares e assim grangeando as credenciais que o elevaram à pasta de Ministro da Educação e Saúde, em 1946, no exercício da qual prestou relevantes serviços a Manguinhos.

Além dos elementos acima citados ingressaram ainda no Instituto no período sob a direção de Chagas de 1926 a 1933, José Guilherme Lacôrte, Álvaro Leite Lobo Pereira, João Carlos Nogueira Penido, Archanjo Soares Penna de Azevedo, Thales Cesar Martins, José de Castro Teixeira, Bento Oswaldo Cruz, Antônio Xavier, Evandro Chagas, Gilberto Guimarães Villela, Emanuel Dias, Fábio Werneck, Walter e Oswaldo Cruz Filho, Gilberto de Freitas, Carlos Chagas Filho e o experimentado biologista Gustavo de Oliveira Castro que já trabalhara no Instituto Biologico de São Paulo e no Instituto de Biologia Animal do Ministério da Agricultura.

Com estas aquisições feitas ao tempo da administração Chagas, ficou a equipe de técnicos do Instituto bastante aumentada e com elementos de valor, como se pode verificar pelos trabalhos que têm realizado nas diferentes especialidades que adotaram, assim como no desempenho de trabalhos práticos de interêsse para a Instituição.

Em conseqüência da orientação de Chagas foi o Instituto se engrandecendo cada dia e prosseguindo sempre firme na senda que lhe fôra traçada pelo seu fundador.

Em fins de 1918, foi Chagas nomeado Diretor Geral de Saúde Pública e, da mesma forma que Oswaldo, continuou a orientar Manguinhos com o mesmo interêsse e zêlo pelo seu desenvolvimento. À testa da Saúde Pública, Chagas realizou logo uma ampla reforma dos serviços sanitários, cujos benéficos efeitos ainda hoje se fazem sentir tanto no que diz à melhoria das condições sanitárias das populações das cidades como nas do interior do País, estas pela criação do Serviço de Profilaxia Rural que contou com a dedicação apostolar de Belisário Penna. Deu Chagas ao Instituto Oswaldo Cruz, reestruturações técnico-administrativas cujas reformas expressas em novos regimentos dila-

taram larga e profìcuamente o âmbito das suas atribuições científicas e administrativas.

A sua primeira reforma feita em 1919 deu ampliações sôbre o regulamento de 1908 que permitiram a incorporação definitiva na Repartição, de diversos técnicos, alguns dos quais já trabalhavam no Instituto como contratados.

Por essa reforma o corpo de técnicos efetivos ficou constituído por 1 diretor, 6 chefes de serviço, 9 assistentes, 7 sub-assistentes e 1 secretário, havendo além dêsses técnicos 64 servidores administrativos e auxiliares.

As verbas concedidas então para o pessoal e material eram de 565 contos de réis, dispondo ainda o Instituto de uma renda própria de cêrca de 600 contos de réis, provenientes da venda de produtos da qual o Diretor podia dispor livremente. Não era muito, todavia bastava razoàvelmente para nossas necessidades, em face do padrão de vida, na época.

Pelo regulamento de 1919 ficou afeto ao Instituto um serviço de medicamentos oficiais, que cuidava especialmente da manipulação de sais de quinina para a profilaxia do paludismo e do tártaro emético para o tratamento da leishmaniose.

Em novembro de 1926 o Instituto teve outra reforma dando-lhe novas ampliações das atividades, passando o quadro de seus técnicos a ser então constituído por 1 diretor, 7 chefes de serviço, 24 assistentes e 1 secretário e na administração e serviços auxiliares 64 servidores, além de vários técnicos e auxiliares contratados pagos pela renda proveniente da venda de produtos, que orçava então aproximadamente em mil contos de réis. Nesta reforma aparecem indicadas algumas das futuras seções científicas do Instituto, em número de seis:

1. Bacteriologia e Imunidade, 2. Zoologia Médica, 3. Micologia e Fitopatologia, 4. Anatomia Patológica, 5. Química e 6. Hospitalar.

O Instituto Vacinogênico que fôra incorporado em 1920 a Manguinhos foi anexado à seção de Bacteriologia e Imunidade que naquele tempo se ocupava também de vírus.

A reforma de 1926 trouxe a melhoria geral dos vencimentos e, as verbas concedidas pelo Govêrno ao Instituto ascenderam a 1 370 contos de réis, o que aliás não era excessivo pois a elevação dos preços de todos os materiais após a terminação da primeira guerra mundial, exigia êsse aumento para o equilíbrio das nossas despesas.

Finalmente, na administração de Carlos Chagas, houve ainda uma última reforma, em maio de 1931, durante o Govêrno do Dr. Getúlio Vargas, passando o Instituto a constituir um departamento, o Departamento de Medicina Experimental, subordinado ao então recém-criado Ministério da Educação.

Êste Departamento teve amplas atribuições em matéria de investigação científica que não puderam todavia ter o necessário desenvolvimento porque as dotações orçamentárias não aumentaram em corres-

pondência com as atribuições conferidas, havendo o Govêrno dois anos mais tarde extinguido essa organização, em 1933, voltando assim o Instituto a ser, como antes, uma repartição diretamente subordinada ao Ministério da Educação e Saúde.

A reforma de 1931 criou mais uma seção em Manguinhos, a de Fisiologia, que ficou sob a direção de MIGUEL OSÓRIO, sendo também muito ampliadas as atribuições da Filial de Belo Horizonte então sob a competente e dedicada direção de OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES, desde o falecimento de seu fundador EZEQUIEL DIAS, em 1922. Mais tarde, esta filial tornou-se um Instituto autônomo com a denominação de Instituto Ezequiel Dias em homenagem ao seu dedicado organizador e diretor, por tantos anos.

Pela reforma de 1931 foram criados títulos honorários de professor do Instituto Oswaldo Cruz tendo sido êstes conferidos aos seguintes técnicos considerados fundadores, ainda em atividade no Instituto: CARLOS CHAGAS, FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS, CARDOSO FONTES, ARTHUR NEIVA, HENRIQUE ARAGÃO, ALCIDES GODOI e GOMES DE FARIA. Em maio de 1919 CARLOS CHAGAS havia fundado mais uma filial do Instituto, esta em S. Luís do Maranhão, encarregando de organizá-la e dirigí-la CÁSSIO MIRANDA que, durante 16 anos estêve à sua testa, com a mais eficiente atividade. Mais tarde, em 1930, como a de Belo Horizonte, se tornou esta uma organização independente sob a administração estadual.

Fiel às tradições do Instituto, CHAGAS deu sempre a maior atenção ao estudo das nossas endemias rurais não só mediante investigações procedidas no Hospital de Manguinhos e no centro de pesquisas da Moléstia de Chagas, em Lassance, como promovendo numerosas excursões ao interior do país. Assim enviou LUTZ, SOUZA ARAÚJO e OLYMPIO DA FONSECA para uma longa excursão à zona do Rio Paraná, até então não explorado, aproveitando-se os membros dessa missão para estenderem suas atividades até o Paraguai e a Argentina.

Outra grande viagem de estudos foi realizada por OLYMPIO DA FONSECA e JOÃO CARLOS NOGUEIRA PENIDO ao Estado de Mato Grosso e pelas zonas bastante inhóspitas do Chaco Boliviano, por ocasião da exploração inicial da Estrada de Ferro Brasil-Bolívia e LUTZ e OSWINO PENNA fazem ainda uma exploração nos Estados Nordestinos de Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte.

Além destas expedições científicas, que foram as principais, várias outras se efetuaram nos Estados de Minas, Bahia, São Paulo, Mato Grosso, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, etc.

De tôdas estas, bem como das realizadas ao tempo de OSWALDO, advieram dados muito preciosos sôbre a nosologia regional brasileira, além dos fartos materiais parasitológico, entomológico e outros que vieram enriquecer as coleções do Instituto e de cujo estudo resultaram numerosos trabalhos.

Acusaram grande desenvolvimento na administração Chagas as seções de Química e Fisiologia, assim como a de Leprologia confiada a SOUZA ARAÚJO, que durante cêrca de 30 anos continua trabalhando

sôbre êste assunto com muita dedicação e grande produtividade. Sob os auspícios da Liga das Nações, e com valioso auxílio do benemérito brasileiro GUILHERME GUINLE e do Govêrno Federal, instalou-se no Brasil um Centro Internacional de Leprologia, incumbindo-se Manguinhos de uma parte das suas atividades, especialmente relativas às pesquisas de laboratório e de preparo de produtos anti-lepróticos.

Esteve nessa ocasião por cêrca de dois anos no Instituto, em 1932, o químico americano COLE cuidando do preparo de ésteres de chalmoogra e sapucainha, tendo como assistente o Dr. HUMBERTO CARDOSO, também químico.

Ambos realizaram sôbre o assunto numerosas investigações e publicaram diversos trabalhos originais.

Tendo regressado à América o químico COLE, o Dr. HUMBERTO CARDOSO foi convidado, logo após, pelo Govêrno da Colômbia, para organizar naquele País amigo um laboratório para o preparo de ésteres de chalmoogra e finda sua missão voltou às suas atividades no Instituto.

Outra seção que muito se ampliou na direção de CHAGAS foi a de Micologia, tendo sido enviado à Europa e aos Estados Unidos o Dr. OLYMPIO DA FONSECA, que à sua volta organizou e chefiou durante longo espaço de tempo a seção, dotando-a de uma das mais ricas coleções de cogumelos, não só em espécies estrangeiras como de espécies isoladas e estudadas em Manguinhos.

Além dêsses serviços, pràticamente novos no Instituto, cuidou CHAGAS, ao tempo da sua direção, de ampliar outros já existentes como o de Anatomia Patológica, hoje entregue a direção do nosso grande patologista MAGARINOS TORRES e no qual trabalhou por três anos o Anátomo patologista americano BOWMAN CROWELL, que muito concorreu para o seu desenvolvimento; o de Protozoologia dirigido por HENRIQUE ARAGÃO com a colaboração dos reputados especialistas ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e JÚLIO MUNIZ; o de Entomologia começado por OSWALDO e continuado com a atividade proficiente de NEIVA, LUTZ, COSTA LIMA e CESAR PINTO; o de Helmintologia iniciado por GOMES DE FARIA e desenvolvido por LUTZ, grande autoridade no assunto, CESAR PINTO e LAURO TRAVASSOS que se tornou, com o decorrer do tempo, Chefe da escola helmintológica; o de Bacteriologia que contava com os três mestres FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS, ALCIDES GODOY, CARDOSO FONTES e ainda com a competência de ASTROGILDO MACHADO, COSTA CRUZ, CESAR GUERREIRO e GUILHERME LACÔRTE.

Com o desenvolvimento que ia tendo o Instituto em 25 anos, aquelas construções grandiosas mandadas levantar por OSWALDO foram-se tornando insuficientes para os trabalhos; por isso CHAGAS mandou construir um pavilhão especial para a preparação da vacina antivariólica, novas cocheiras e oficinas e uma ampla construção em dois pavimentos para as seções de Química, Micologia e Bacteriologia, edifício ao qual foram superpostos mais dois andares em 1946.

À medida que o Instituto se ampliava, avolumava-se também sua produção científica abrangendo variados assuntos publicados, não só nas "Memórias" como em revista nacionais e estrangeiras.

Em 1928 foi criado um suplemento das "Memórias" destinado à divulgação mais rápida dos trabalhos. Não logrou longa duração êste suplemento pois em 1930 deixou de ser editado voltando-se ao sistema de entregarem-se as pequenas notas a revistas científicas nacionais e estrangeiras.

Desde os últimos tempos da vida de Oswaldo que progressivamente crescia o número de estrangeiros que buscavam o Instituto para aperfeiçoamento cultural, assim como já o faziam os brasileiros, tornando-se esta concorrência cada vez mais acentuada. Os primeiros a virem foram os cientistas das repúblicas sul americanas: Bolívia, Paraguai, Uruguai, Argentina, Peru, Chile, etc. Depois seguiram-se os europeus e norte americanos e, hoje em dia, há sempre em Manguinhos vários técnicos estrangeiros freqüentando os cursos ou fazendo estágios nas diferentes seções, onde são sempre acolhidos com solicitude e agrado. Não raro também retribuimos estas permanências enviando nossos técnicos para um tirocínio ou afim de realizarem conferências em instituições científicas da América ou da Europa, firmando-se desta forma um intercâmbio cordial e eficiente para nossas relações culturais.

Durante a administração de Chagas houve duas oportunidades em que todo o Instituto se mobilizou por atender a graves situações de calamidade pública ocorridas no Rio de Janeiro.

A primeira deu-se por ocasião da mortífera epidemia de gripe em fins de 1918, no Rio, que causou cêrca de 15 mil baixas em pouco mais de 2 meses, colocando a população em pânico e produzindo graves perturbações nos abastecimentos, nos serviços públicos e particulares, pois quase ninguém escapou ao mal sob uma forma mais ou menos grave.

Ao mesmo tempo que o Govêrno enfrentou com decisão os problemas públicos, os de abastecimento e os administrativos, entregou inteiramente a Chagas a solução dos assuntos relativos à assistência médica e hospitalar aos doentes.

Tôda a classe médica e numerosas pessoas de boa vontade, escapas à doença, ofereceram logo e espontâneamente sua colaboração e, graças a êsse nobre gesto de solidariedade humana, Chagas pôde não só atender aos muitos milhares de doentes pobres com vários hospitais de emergência espalhados por tôda a cidade como criar um eficiente serviço de assistência médica domiciliar.

Graças à ação rápida de Chagas em relação a assistência aos doentes, e à do Govêrno relativa aos abastecimentos e serviços públicos, a situação normalizou-se dentro em pouco após um período inicial cheio de angústias, numa cidade de cerca de um milhão e duzentos mil habitantes e com sua vida quase paralizada pela irrupção fulminante de um mal de uma capacidade de propagação até então desconhecida e de alta letalidade.

Nessa inesperada e tão funesta ocorrência Manguinhos não faltou ao seu dever.

A maioria dos técnicos foi servir nos hospitais mais trabalhosos dos subúrbios, permanecendo no Instituto alguns poucos nos seus laboratórios realizando investigações sôbre a etiologia, a clínica e a terapêutica, e outros problemas referentes a êsse insólito mal.

Trabalhou-se então intensamente horas a fio, sem descanso, resultando dêsses porfiados estudos novos rumos para o problema da etiologia da gripe, pois ficou claro que o bacilo de Pfeifer não era senão um germe de associação secundária na evolução do mal e apontada a sua natureza de moléstia produzida por vírus. depois amplamente confirmada em outros laboratórios nacionais e estrangeiros.

Passada a tormenta, todos os que haviam tomado parte tão ativa e eficiente na sua debelação e estudo voltaram aos seus afazeres, satisfeitos com o dever cumprido nesse momento calamitoso da vida da nossa Pátria.

Outro grande surto de excepcional atividade em Manguinhos se verificou durante a invasão no Rio de Janeiro da febre amarela, em 1928, após 20 anos da sua extinção por Oswaldo Cruz.

Havendo-se restringido excessivamente os serviços de combate aos estegomias, por medida de falaz economia, não obstante os avisos dos responsáveis pela Saúde Pública e, estando a cidade inçada dêsses mosquitos, foi fácil ao mal, uma vez chegado por via desconhecida, expandir-se e perdurar por quase dois anos, estendendo-se ainda a núcleos urbanos dos Estados do Rio, Minas e São Paulo.

Quase todos em Manguinhos, obedientes à velha tradição da nossa Casa, lançaram-se ao estudo do mal em seus vários aspétos ainda bastante desconhecidos.

Trabalharam todos com muito entusiasmo retornando àqueles longos horários da era oswaldiana, que se estendiam desde a manhã até altas horas da noite com pouco tempo para descansar.

Foram então investigados os mais variados problemas científicos e práticos relativos à febre amarela: clínicos, patogênicos, anátomo e histo-patológicos, urológicos, hematológicos, terapêuticos, químicos, biológicos, imunológicos, a evolução do vírus nos mosquitos, as infeções experimentais em animais sensíveis e à vacinação.

De todo êsse labor intenso feito com grande entusiasmo resultaram numerosas verificações originais entre as quais: a presença do vírus nas células hepáticas, a transmissão da moléstia a macacos brasileiros e estrangeiros, aspétos clínicos patogênicos e urológicos novos, a penetração do vírus pela pele intacta, a baixa do complemento de acôrdo com a gravidade do mal, a circulação do vírus nos macacos, a presença do vírus no hemolinfa e nas fezes dos mosquitos, a infecção dos carrapatos com o vírus amarílico, a vacinação humana, o diagnóstico pela prova de proteção, a derrocada do *Bacilus hepatodistroficans*, suposto agente da moléstia, e várias outras descobertas importantes.

Viveram-se em Manguinhos dias inesquecíveis e mais uma vez o trabalho conduzido com entusiasmo se revelou um fator preponderante para o sucesso das investigações científicas.

Debelado o surto de febre amarela, alguns pesquisadores ainda continuaram a investigar o assunto e os demais voltaram às suas fainas habituais, todos com a consciência de haverem, mais uma vez, se esforçado por bem servir à Casa de Oswaldo.

Carlos Chagas pela descoberta que fizera, e pela sua grande personalidade, desfrutou sempre de grande prestígio nos meios científicos nacionais e estrangeiros.

Recebeu numerosas condecorações de governos europeus e sul-americanos e presidiu a numerosos Congressos científicos.

Foi representante do Brasil na seção de Higiene da Liga das Nações e recebeu o título de professor "honoris causa" de diversas universidades européias e americanas, além dos de membro de honra de academias científicas de diversos países.

Em 1930 está no ponto culminante da sua brilhante carreira.

A partir porém de 1931 sua vigorosa constituição física começa a declinar em virtude de uma persistente hipertensão, da qual só têm notícias seus íntimos e também da qual não cuida muito, absorvido pelos seus afazeres.

Por outro lado, com a mudança de regime de Govêrno no Brasil, pessoas da sua maior afeição foram afastadas dos seus postos, o que muito o afetou.

Êle próprio julga não se achar nas boas graças do Govêrno. Há boatos que se pensa em dar-lhe um substituto estranho a Manguinhos, o qual seria o Professor Sérgio Meira. Êste todavia era um homem dotado de tão grande coração quanto de caráter e, depois de conversar com um amigo que o esclareceu sôbre a situação, o assunto caiu no esquecimento, escapando Manguinhos de uma crise que seria das mais funestas às suas normas e tradições.

Nessa ocasião todos os que tinham amor ao Instituto cerraram fileiras em tôrno do Diretor num movimento de sincera solidariedade que não se traduziu por palavras nem declarações porém que êle comovido bem sentiu e apreciou.

Felizmente êsse momento de incerteza foi fugaz e Chagas pôde continuar dedicando-se ao Instituto, sòmente mais retraído nas suas relações com o Govêrno, nas quais era suprido por Leocádio Chaves com a sua inigualável dedicação aos interêsses do Instituto e do seu Diretor.

Tôdas essas e outras contrariedades influiram muito provàvelmente sôbre a marcha da sua moléstia e foram-no abatendo.

Os que estavam freqüentemente com êle no Instituto, não notavam com clareza os progressos do mal, porém um médico estrangeiro em visita a Manguinhos, em princípios de 1934, depois de uma longa ausência, repara na fisionomia abatida de Chagas. Êste melhor do que ninguém conhecia o seu estado e, um dia, diz calmamente a um técnico que indagava se estavam cedendo ao tratamento umas manifestações alérgicas que apresentava nas mãos: "Isto aqui não tem impor-

tância, sou um homem liquidado". Antes que o interlocutor tivesse voltado da suprêsa de uma tão inesperada declaração, CHAGAS já passara a outro assunto, fiel àquele pudor que têm os pesquisadores em comentar os seus males físicos, especialmente quando os sabem irremovíveis.

Infelizmente CHAGAS não se enganava, e a 8 de novembro de 1934 se extinguia bruscamente essa grande vida que tanto honrou a Medicina brasileira e a ciência universal, na qual para sempre seu nome ficará gravado.

Seus funerais foram feitos pelo Govêrno, e seus companheiros de Manguinhos, a Faculdade de Medicina e a Classe Médica brasileira em geral, prestaram-lhe as mais sinceras, honrosas e merecidas homenagens póstumas, sendo seu busto colocado em Manguinhos e também num dos jardins da Praia de Botafogo, no Rio, além de muitas outras manifestações com que seu vulto tem sido e continua a ser reverenciado e cultuado, no Brasil e no estrangeiro.

Manguinhos, Dezembro de 1952.

Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae)

III parte: Pesquisas sôbre o mecanismo da picada dos Triatominae

por

Rudolf Barth

(com 22 figuras)

SUMÁRIO:

1. Considerações gerais
2. Observações no animal vivo
3. As articulações do lábio
4. O segmento apical do lábio
5. O órgão de contrôle das mandíbulas
6. Resumo
7. Literatura
8. Abreviações nas figuras

1. Considerações gerais.

No trabalho de Barth (1952) foram apresentadas as bases anatômicas para analisar a atividade das partes bocais dos *Triatominae* no sentido de uma anatomia funcional, isto é para tentar de chegar a uma explicação do mecanismo da picada em todos os seus detalhes. Numerosos trabalhos sôbre o mecanismo da picada dos *Rhynchota* foram publicados recentemente (Berlese, Stough, Grove, Brittain, Brocher, Minkiewicz, Davidson, Weber, Heargreaves, Awati e Tower). Estes referem-se na maioria aos *Homoptera*. Sòmente Awati, Tower e Weber (1929) observam os *Heteroptera* mais detalhadamente sem porém poder chegar a um quadro geral que permetisse de esclarecer, até o último detalhe, o mecanismo da picada dos *Triatominae* pois ainda restam alguns pontos não esclarecidos.

A definição dos problemas resulta da redição da opinião até então existente do mecanismo da sucção nos *Rhynchota* em geral. Sem en-

trar em detalhes da literatura acima citada. O mecanismo da picada nos *Heteroptera* deve ser explicado como segue:

Por meio de contrações alternativas dos protratores as mandíbulas entram parte por parte na epiderme do hospedeiro. Depois de cada movimento isolado ou depois de alguns movimentos das mandíbulas, as maxilas seguem como um feixe só. Esta penetração continua até esgota-se a capacidade contratora dos protratores das mandíbulas, se a fonte da alimentação não for encontrada antes, nas quais entram as maxilas para sugar. Quando tratar-se de *Heteroptera* nas quais o feixe dos estiletes pode sair do sulco labial por desdobramento do lábio, a cabeça pode aproximar-se consideràvelmente à epiderme do hospedeiro. Agora os protratores podem ser estendidos novamente podendo o feixe penetrar mais. Nas outras formas êste efeito sòmente pode agir pelo entrosamento das membranas de articulação o que provoca um encurtamento do lábio o que permite aos estiletes mais uma possibilidade de avançar. Sem resposta fica a dúvida sôbre um efeito correspondente naqueles *Heteroptera* nos quais o lábio nem pode ser desdobrado nem entrosado. À êste grupo pertencem os *Triatominae* (veja abaixo).

Nas *Psyllidae* (*Homoptera*) e em outras famílias dos *Homoptera* consegue-se uma grande profundidade da picada por um aparelho de fixação no lábio: Os estiletes são fixados por um par de ganchos quitinosos (*"fingerfoermige Fortsaetze"* segundo Weber, 1930, *"mamelons crochus"* segundo Brocher, 1925) no sulco labial tão logo quando o protrator das mandíbulas contraiu-se até o máximo. Por contração dos retratores são novamente extendidos os protratores e depois que o aparelho de fixação cede, os estiletes podem ser puxados novamente para frente. Desta forma *Psylla mali* (Weber, 1929), por exemplo, pode estender inteiramente os seus estiletes compridos os quais, quando em repouso, formam em baixo da cabeça um laço, entrando assim profundamente no tecido vegetal. Como é fácil de provar, o protrator dos *Triatominae* não pode estender as mandíbulas para encontrar uma fonte de alimentação suficiente (veja abaixo), resulta a necessidade de conseguir uma maior profundidade de picada por meio de uma nova extensão dos protratores. Um mecanismo igual à êste não é conhecido nos *Heteroptera* o que é mencionado mais abaixo.

Uma outra questão difícil é o contrôle da direção e da profundidade da picada também já tratado por Weber em resumo. Os estiletes são apenas de quitina e não possuem nenhuns órgãos sensíveis em toda sua extensão. O contrôle químico do alimento ingerido é feito na epifaringe. Devido aos estímulos assim recebidos pode ser conseguido uma reação dos estiletes pelo sistema nervoso central. Para o encontro da fonte de alimentação necessita-se também a percepção de estímulos táteis. Weber supõe a situação dos órgãos sensíveis correspondentes nos órgãos em forma de retorta das bases ampliadas dos estiletes profundamente na cabeça. Uma descrição mais detalhada dêstes órgãos receptores não foi feito até hoje. Na observação dêsses pontos poude-ram ser constatadas apenas alguns livres fios terminais de nervos que

não se distinguem em nada da inervação de todos os outros órgãos da cápsula crâniana.

Pela análise dos movimentos da picada e do mecanismo de sucção pode ser provado que as mandíbulas devem responder principalmente à estímulos mecânicos na entrada do tecido do hospedeiro. No caso que, por exemplo, o estímulo de pressão for diminuído pela alteração da densidade do tecido do hospedeiro para as mandíbulas, existe para o animal a possibilidade que foi encontrado uma veia. Sòmente agora as maxilas entram nêsse ponto de uma pressão menor e a bomba da faringe começa o seu trabalho. O afluxo da alimentação é controlado quìmicamente na epifaringe com respeito a sua composição e sòmente agora é resolvido se êste ponto é capaz de satisfazer o animal. Verifica-se por conseguinte que as mandíbulas reagem exclusivamente à estímulos mecânicos que as maxilas porém participam da recepção dos estímulos sòmente pelo afluxo da alimentação à epifaringe. O órgão de recepção para estímulos químicos está assim definito faltando o para estímulos mecânicos o qual será descrito abaixo.

Da consideração crítica da literatura existente e já acima citada resultam as seguintes perguntas para a definição do mecanismo da picada dos *Triatominae* (se isto também diz respeito para outros grupos dos *Hetoreptera,* não pode ser afirmado ainda hoje, pois ainda faltam observações à êste respeito):

1. Qual é a profundidade que as maxilas atingem no tecido do hosdeiro?
2. Pode ser encurtado o lábio dos *Triatominae?*
3. Possuem os *Triatomonae* um aparelho de fixação no lábio?
4. Possuem os *Triatominae* a possibilidade de controlar a penetração das mandíbulas no tecido do hospedeiro?

2. *Observações no animal vivo.*

Para determinar a profundidade das mandíbulas para dentro do tecido do hospedeiro há a necessidade natural de observar os estiletes do animal vivo como no animal recentemente sacrificado.

Como já Awati (1914) para *Lygus* e Weber (1930) para *Heteroptera* em geral observaram o feixe dos estiletes é movimentado para frente no sulco labial já pela ereção do lábio de repouso para a posição da picada. Êste efeito completa-se pelo fato que a inserção do lábio avançou um pouco por cima da parte superior da cabeça e que os estiletes, porém segurados pelas listras longitudinais do anteclípeo e do labro, deixam a cavidade bocal quasi na ponta da cabeça. Êsse processo é reproduzido conforme o esquema de Weber com a fig. 1. Desta forma como já foi observado por Weber o feixe dos estiletes é empurrado para frente pouco antes da picada até que a contração dos protradores chega logo ao efeito máximo. Com o lábio estendido a ponta do feixe sobressai um pouco no animal vivo da cavidade do sulco labial. No começo da picada o corpo é empurrado com bastante fôrça para frente

e assim o lábio é encostado como uma faca na epiderme do hospedeiro. Esta pressão é tão forte que pode ser observada, no binocular, como a epiderme (bem nítido na epiderme abdominal limpa da cobaia) é imprensada. Foi medida num grande número de *Heteroptera* a saída do feixe dos estiletes da ponta do lábio. Os animais foram narcotisados ligeiramente com clorofórmio, colocados em cortiça com argulhas numa posição lateral e observados pelo binocular com ocular-micrómetro ajustado. Apesar que os protratores encontraram-se, devido ao narcótico, em estado variável de contração, resulta do resumo seguinte de alguns exemplos de *Triatoma infestans* um quadro do mecanismo das mandíbulas durante a ereção do lábio (as maxilas não foram observadas):

OBJETO	COMPRIMENTO DA PARTE VISÍVEL DAS MAXILAS EM MICRA			Comprimento do lábio em mm
	Lábio em repouso (A em fig. 1)	Lábio na posição perpendicular (B em fig. 1)	Lábio totalmente estendido (C em fig. 1)	
Larva III	não visível	não visível	708	2,3
Larva IV	não visível	90	233	3,1
Ninfa	não visível	83	414	4,5
Adulto, macho	não visível	120	364	5,8
Adulto, fêmea	385	408	703	5,1

No último caso dêste resumo o efeito do clorofórmio parece ter sido exagerado de forma que surgiu uma contração mais forte e irreversível do protrator. Dêstes casos (outras observações têm aspeto semelhante) deixa-se concluir que as mandíbulas saem 250 a 300 micra durante a extensão do lábio do adulto sem contração dos protratores. Como as mandíbulas dos Triatominae são bem fortes e pouco flexíveis, pode-se admitir que com o movimento do corpo para frente no início da picada as pontas dos estiletes já são empurradas contra a epiderme. Biològicamente este efeito tem a vantagem que o pêlo do hospedeiro primitivo pode ser penetrado pelas mandíbulas sem ação de musculatura. Se nesta altura já verifica-se a entrada na epiderme não poude ser observada. Se as mandíbulas com isto são empurradas um pouco para trás pela pressão para dentro da cabeça, elas soltam a alavanca de articulação e o protrator de forma que durante a contração do último é prestado logo um trabalho efeitivo.

O comprimento da parte das mandíbulas que entram durante a picada no tecido do hospedeiro depende em primeiro lugar direitamente do comprimento do protrator. Para determinar o comprimento exa-

to do *musculos protractor mandibulae* recorrem-se à uma série de cortes transversais pela cabeça de um adulto de *Triatoma infestans* (215k, 15 micra) cujos estiletes não saíram depois da fixação do lábio de forma que a alavanca de articulação encontrou-se na sua posição posterior mais extrema e que o protrator estava estendido. Pela contagem dos cortes do começo até o fim do músculo foi determinado um comprimento de 48 . 15 = 720 micra. O encarquilhamento medido é de 25%, sendo assim o comprimento real do músculo de 900 micra. Para contrôle foi medida de mesmo modo a distância entre as duas inserções (no fulcro e na alavanca de articulação) resultando o mesmo comprimento ou sejam 60 cortes de 15 micra igual a 900 micra. Das observações em músculos das lagartas (Barth, 1937) resulta um encurtamento máximo do músculo normal do inseto de quasi 35%. No caso presente encurta-se assim o protrator de 315 micra. O comprimento da alavanca de articulação é de 423 micra sendo que o músculo começa com as suas fibrilas medianas 262 micra distantes da parede crâniana na alavanca. Resulta o esquema da fig. 2. Nêste são conhecidos os lados A, B e C. Temos assim a equação:

$$A : x = B : (B + C)$$

ou

$$315 : x = 262 : 423$$

de onde resulta:
$x = 508{,}6$ micra.

Na verdade B e C não percorrem linhas reitas para B' e C', mas arcos. Como a alavanca de articulação não é fundida em C com a mandíbula mas sim com o canal tentorial da mesma mandíbula, resulta para a mandíbula um movimento em linha reta pois o canal de epiderme membranosa cede por formação de dobras e que a mandíbula é fixada na sua posição pelas listras de condução do tentório. Deve-se admitir um movimento para frente de um máximo de 500 micra pela contração maximal do protrator das mandíbulas no adulto. Adiante foram feitas séries de observações dos movimentos dos estiletes.

Foram observados inicialmente larvas e adultos durante a picada. Os animais foram colocados em tubos de vidros fechados de um lado por cortiça e do outro lado com gaze grossa contendo ainda um pedaço de papel de filtro (fig. 3). O lado com a gaze foi aproximado à epiderme do abdomen sem pêlo de uma cobaia ou de um rato e foi feito a observação com um binocular. A picada procedeu-se em todas as observações aproximadamente da mesma forma. Como exemplo é citado o seguinte protocolo:

"A reação começa após de poucos segundos com movimentos das antenas e com a ereção do corpo do repouso, o animal dá uns passos em direção à gaze estendendo o lábio ràpidamente e até o extremo para frente, estiletes não podem ser vistos, movimento das antenas bem

visível: Movimentos de orientação (isto é que as antenas são orientadas alternativamente para frente e para trás), o animal aproxima-se depois de alguns segundos mais ainda à gaze, para pouco antes (outras observações com binocular), animal orienta-se com o lábio, não com as antenas (estas viradas para cima), aproxima-se o lábio através da gaze até pouco antes da epiderme da cobaia, movimentos de orientação do lábio: o segmento apical é virado freqüente e fortemente para os lados, nunca para cima ou para baixo, o corpo avança com fôrça horizontalmente, o lábio encosta-se na epiderme formando uma depressão, segue sucção, depois de 8 minutos abdomen fortemente aumentado, fezes, o animal retira-se para a parte mais escuro do tubo."

Numa outra série de observações foi tentado de verificar os movimentos dos próprios estiletes. Para êste fim os animais (só adultos) foram expostos à evaporações de clorofórmio até que os movimentos começaram a parar. Os animais assim tratados foram colocados em posição lateral e segurados com alfinetes num pedaço de cortiça sendo as observações feitas com binocular. O lábio foi fixado com um alfinete na sua posição de ataque. Pelo efeito do narcótico são pertubados possìvelmente os movimentos na sua seqüência. Apesar disto estas observações dão dados importantes sôbre as possibilidades dos movimentos dos estiletes. Movimentos observados das pontas:

As mandíbulas são movimentadas para frente alternativamente processando-se depois de 4 a 6 empurrões uma retraída até a abertura do sulco labial. Em seguida novo movimento alternativo para frente. Maxilas invisíveis. As mandíbulas estão paradas, as maxilas como um feixe só são empurrados ràpidamente várias vêzes para frente e depois novamente para trás. Outra observações de um caso dá o seguinte protocolo:

"Maxilas estendidas para frente entre as mandíbulas paradas (circa 1 mm), a maxila direita com fio terminal é retraído isoladamente por um pequeno pedaço (os canais maxilares estão assim abertos), a maxila esquerda está parada, o movimento é feito sucessivamente movimentando a ponta das maxilas no plano frontal para o lado direito, em seguida um movimento lento para frente da maxila direita até a posição de saída (os canais maxilares estão assim fechados), nessa altura o fio terminal coloca-se diante da ponta da maxila esquerda dobrando para o lado esquerdo quase retangular. Êste movimento é repetido constantemente, durante cada movimento de retôrno sai da ponta da maxila esquerda uma pequena gota de líquido claro (secreção de saliva)."

Mandíbulas puxadas para frente mecânicamente voltam devagar para a sua posição de partida, maxilas tratadas assim porém não voltam.

Para observar mais ainda as possibilidades de movimento, foi feita a seguinte observação:

"*Triatoma megista,* macho, adulto. Ligeiramente narcotisado com os segmentos apical e medial do lábio separados, estiletes na sua totalidade conservados, colocado horizontalmente, o resto do lábio puxado para frente, depois de 3 minutos começam os movimentos das antenas,

depois de 5 minutos os dos estiletes: Sòmente a parte da ponta movimenta-se no plano frontal. O ângulo é de 5° a 8°. O movimento no plano sagital também visível mas ligeiramente, 2° a 3°. A ponta descreve uma elipsa com os diâmetros (a ser calculado sôbre tgα) de 112 micra e 40 micra. Movimentos alternativos das mandíbulas foram observados, os das maxilas não.

Em estiletes mecânicamente separados as maxilas formam cada uma por si um arco para dentro (muito plano), indicando assim que cada uma maxila possui uma tensão na sua quitina que favorece a fixação em conjunto e que é necessária para o fechamento durante a formação dos canais na passagem pela hipofaringe. As mandíbulas ficam retas ou são viradas para dentro muito ligeiramente."

Uma torsão irregular dos estiletes como em Homoptera, descrito por diversos dos citados autores, não pode ser constatado. Uma comparação destas observações com os resultados do trabalho anatômico (Barth, 1952) permite as seguintes conclusões com respeito à função dos estiletes:

As mandíbulas e as maxilas encontram-se, também quando em repouso, constantemente sob uma certa pressão produzida pelo tôno muscular normal dos protratores ou pelas partes quitinosas e elásticas da alavanca de articulação (nêste caso sòmente nas mandíbulas). Por esta razão as pontas dos estiletes encontram-se sempre logo na abertura do sulco labial e sempre prontas para ação. O movimento da picada das mandíbulas processa-se por transmissão da fôrça do protrator por meio de alavanca de articulação sôbre o canal de condução tentorial da mandíbula que no fim da mandíbula passa para dentro desta. A pressão relativamente alta durante a picada, que no caso de uma inserção direita do protrator na mandíbula devia ser superada pelas tonofribrilas do ponto de inserção, é distribuída pelo transmissão da alavanca de articulação sôbre três inserções (inserção do protrator na alavanca, inserção da alavanca na parede do canal tentorial, inserção do feixe hipodermal das fibrilas no fim da mandíbula). Pela introdução da alavanca de articulação aumenta-se o efeito da contração maximal do protrator de 315 micra para 500 micra. Os protratores das maxilas e das mandíbulas podem ser contraídos todos simultânea — e indivualmente. As aberturas de ambos os canais (canal de alimentação e o de saliva) entre as maxilas ficam durante a entrada no tecido do hospedeiro fechadas até começarem os movimentos de sucção. O fechamento é feito pela ponta estreita e filiforme da maxila direita. Por uma ligeira retração as aberturas ficam livres. Êste fechamento é tão hermético que sòmente sai saliva quando a maxila direita for retraída.

O feixe dos estiletes é capacitado para modificar ligeiramente a direção da sua ponta conforme os resultados de Weber (1930) em *Homoptera* possìvelmente por contrações alternativas dos protratores das mandíbulas e maxilas. Desta forma uma contração dos protratores esquerdos provocaria uma curvação para o lado direito. Esta possibilidade de mudar a direção tem sòmente efeito pequeno: Enquanto que

o feixe dos estiletes fechado na ponta pode tocar num arco de sòmente 40 micra (veja acima), as maxilas totalmente estendidas (veja abaixo) podem formar um arco de nunca mais do que 120 micra no total. À êste cálculo, que só tem valores aproximados, corresponde a observação que o animal sugando liga freqüentemente por várias vêzes e em lugares diferentes a epiderme do hospedeiro.

Para controlar a profundidade da introdução das maxilas foi feita uma série de observações das quais é reproduzido o seguinte resumo:

"Observação com animal vivo. *Triatoma infestans,* fêmea, em tubos de vidro fechados com gaze. Começa sugar depois de três minutos na cobaia, 2 minutos depois o abdomen começa visìvelmente encher-se com sangue, interrupção: Vidro um pouco afastado da cobaia deixando entre a ponta do lábio e a pêle da cobaia uma distância de 0,5 mm, observação com ocular-micrómetro, em seguida o animal faz movimentos de orientação com segmento apical para os lados, depois de um minuto o lábio fica estendido numa reta e os estiletes saiem sucessivamente e cobrem a distância, animal suga durante mais de um minuto, enchendo o abdomen, interrupção, afasta-se o vidro por mais 0,5 mm: O mesmo resultado: os estiletes atingem novamente a epiderme, abdomen enche-se mais, interrupção: Vidro afastado por mais 0,5 mm: As mandíbulas não atingem mais a epiderme, mas sim as maxilas, estas últimas não penetram mais a epiderme, movimentos de orientação bem fortes com o lábio inteiro, o animal fica inquieto, interrupção: Distância reduzida de 1,5 mm para 1,0 mm: Continuação da sucção, depois de 5,5 minutos o animal termina a sucção de livre vontade, abdomen fortemente aumentado, fica sentado durante 6 minutos, fezes, novamente fezes depois de 10 e 12 minutos, retira-se para o escuro."

Desta série de experiências simples as quais prestam-se sòmente animais bem fomintos resulta que as mandíbulas podem sair mais do que 1 mm mas menos do que 1,5 mm do lábio. As maxilas ultrapassam o limite de 1,5 mm um pouco.

Para poder determinar os limites das possibilidades de movimentação das maxilas, o comprimento dos protratores foi medido na mesma série de cortes transversais que servia para a determinação do comprimento do protrator das mandíbulas. Encontrou-se considerando o encarquilhamento do músculo de 25% um comprimento de 3,769 mm. Desta forma a contração maximal de 35% deve ser calculado com 1,319 mm. Êste comprimento corresponde aproximadamente aos resultados das observações supracitadas igualando-se a função e o achado anatômico. A situação da mandíbula é diferente. Segundo o achado anatômico, ela só pode sair do lábio 0,5 mm, aproximadamente, enquanto que o comprimento observado é de 1,2 a 1,3 mm.

Êste problema, de outro lado, pode ser considerado também do lado empírico-bionômico. Os *Triatominae* sugam no homem de preferência durante a noite em partes do corpo descobertas como face, pescoço e mãos. No corte da epiderme humana verifica-se que os primeiros capilares sanguíneos são encontrados na parte mais baixa da epiderme, no *stratum germinativum,* e nas papilas do *coreum* superior,

isto é na epiderme da face numa profundidade de quasi 70 a 100 micra. Êsses capilares são, porém, de um diâmetro tão diminuto (10 a 25 micra) que um animal de um comprimento de 4 a 5 cm difìcilmente poderá satisfazer-se pois o diâmetro das maxilas já é maior do que o do vaso. Sucção de uma hemoragia em redor de um vaso ferido possìvelmente não devia proporcionar um apressamento maior de se satisfazer. Além disto (conforme informações pessoal do Dr. Julio Muniz do *Instituto Oswaldo Cruz*) a ação hemorágica da saliva de todos os *Triatominae* é muito reduzida. Êste fato tem importância biológica pois evita movimentos de defesa do hospedeiro geralmente em repouso. Vasos sanguíneos maiores encontram-se sòmente no *stratum capilare* quase no meio do coreum numa profundidade de 1 000 a 1 500 micra de acôrdo com a espessura da epiderme situado por cima. No resumo verifica-se assim que as mandíbulas devem sair do lábio pelo menos por um comprimento dobrado do efeito de contração dos protratores para abrir às maxilas o caminho à fonte da alimentação. Para esclarecer esta questão deve-se proceder a um exame dos segmentos do lábio para verificar se êste como em *Cimex lectularius* (Hase, 1917) pode ser dobrado ou como em *Psyla mali* (Weber, 1929) pode ser encolhido como um telescópio.

3. As articulações do lábio.

Como material de observação serve aqui *Triatoma megista*.

O segmento apical do lábio que é sòmente a metade do comprimento do segmento medial não possue músculos. O interior está preenchido por líquido da cavidade geral, nervos e sulco labial com os estiletes (dados mais detalhados para a anatomia veja Barth, 1952).

A articulação com o segmento medial merece atenção especial pois podia existir aqui a possibilidade de encurtar o lábio durante a picada como descrito por Weber na *Psylla mali* (fig. 4). Já a observação do animal vivo sob o binocular mostra que a mobilidade dêste segmento é limitada: O segmento da ponta pode ser virado até 75° para ambos os lados no plano frontal, nunca para cima ou para baixo, isto é no plano sagital. Quando intervir-se mecânicamente verifica-se que em ambas as direções no plano sagital é oferecida uma resistência nítida por particularidades da estrutura do esqueleto. Isto também aplica-se para a articulação entre os segmentos basal e medial, sòmente que aqui a mobilidade no plano frontal é menor não atingindo mais do que 35°. De outra forma comporta-se a articulação basal do lábio que não permite um movimento no plano frontal pois as cabeças laterais de articulação sem membrana mais comprida encostam-se direitamente às partes correspondentes das bucculae. Ao contrário a isto o segmento basal, graças às suas grandes membranas de articulação nas partes dorsal e ventral, pode ser virado em mais do que 180° da posição de repouso em baixo da gula para frente. As possibilidades de movimento foram reproduzidas na fig. 5. Apesar destas restrições o lábio deve ser considerado muito móvel em comparação a outros grupos de *Heterop-*

tera (predatores e fitófagas) pois pela combinação da possibilidade do movimento frontal dos segmentos medial e apical com o movimento sagital do segmento basal pode ser atingido qualquer direção no campo bocal. O mesmo diz respeito para *Triatoma infestans*, *sordida e Rhodnius prolixus*. Para efeitos de comparação foi observado ainda um heteróptero predator, *Zelus leucogrammus*. A mobilidade do lábio desta espécie é bem menor: As articulações entre os segmentos basal e medial e entre êste último e o segmento apical são quase imóveis. A articulação do segmento basal permite apenas um movimento de 90° aproximadamente no plano sagital. Como o lábio tem a forma de arco, a abertura do sulco labial orienta-se para baixo e para trás. Uma comparação de modo de vida de ambos os grupos demonstra que a grande mobilidade do lábio oferece aos hematófagos a possibilidade de atacar a vítima sob condições mais diversas enquanto que *Zelus* como predator segura a vítima (pequenos insetos, quase sempre dípteros) com as pernas raptores mucosas sempre na mesma posição em baixo da própria cabeça de forma que o lábio levantado acerta sem perder tempo sempre a vítima que é paralisada e morta pela saliva dos estiletes.

Uma observação microscópica da articulação entre os segmentos medial e final dá um resultado igual a do achado morfológico: Em fig. 6, na qual são representados sòmente a quitina e os músculos esquemàticamente, aparecem no corte sagital as duas cabeças de articulação (K_1 e K_2) que servem como pontos giratórios durante o movimento no plano frontal. Na fig. 9a reconhece-se no corte transversal o aumento forte da exocutícula dura (de côr preta, GK).

Verifica-se que o lábio dos *Triatominae* não pode ser encolhido ou apenas ligeiramente (poucos micra) durante a picada. Como até agora não foi observado que o lábio forma durante a picada um ângulo, respectivamente que isto morfològicamente não é possível como em *Cimex lectularius,* resulta a necessidade de procurar um aparelho que adapta-se para isto conforme as descrições de Weber e Brocher para *Homoptera* de aumentar o raio de ação dos estiletes dos *Triatominae*.

4. O segmento apical do lábio.

Empregou-se o seguinte método para a anatomia macroscópica do lábio: Coloração da cabeça com lábio em fucsina ácida (soluto aquoso a 1% durante 2 a 3 horas), retirada do corante supérfluo em H_2O, lavar e infiltrar com parafina aborrachada (solução saturada de latex em prafina com ponto de fusão de 56° a 58°). O lábio, após ser limpado com xilol ou benzol, é deitado até a sua metade, horizontalmente, na parafina e preparado sob o binocular. Os resultados anatômicos dos segmentos medial e apical reproduz a fig. 7.

Brocher e Weber descreveram para *Homoptera* órgãos em forma de gancho no sulco labial (*"mamelons crochus du rostre"* segundo Brocher, *"fingerfoermige Fortsaetze"* segundo Weber). O primeiro não reconheceu nìtidamente a função dos mesmos enquanto que Weber com

acerto classificou os como aparelhos de fixação com musculatura própria e complicada: O aparelho estendido pela elasticidade da cutícula fixa as mandíbulas que correm através das suas pontas na sua posição presente. Nos movimentos dos estiletes em ambas as direções a fixação pelos ganchos é diminuída pela musculatura. Esgota-se durante a picada a capacidade da contração dos protratores, as mandíbulas são novamente fixadas e o músculo antagônico retrator estende novamente o protrator. Depois que êste processo repetiu-se umas vêzes durante o avanço dos estiletes êstes últimos entraram no tecido do hospedeiro por várias vêzes mais do que a possibilidade da contração do seu protrator.

Uma forma correspondente nos *Heteroptera* não foi descrita até hoje.

Por meio de uma série de cortes transversais do lábio (614 e 615) foram examinados o esqueleto e os músculos. Encontraram-se na ponta do segmento apical estruturas quitinosas que em seguida estão descritas mais detalhadamente. O achado anatômico mostra a reconstrução dos segmentos medial e apical em fig. 7. O lábio foi aberto por um corte longitudinal na direção frontal. Para completação servem os cortes transversais em fig. 8 e 9a-d. A situação dos estiletes vê-se na fig. 10.

A anatomia mostra que o segmento apical não possui músculos e que o segmento medial tem além dos músculos transversais sòmente um par de músculos longitudinais que fascilitam os movimentos laterais do segmento apical pois êles inserem-se com tendões compridos na base do segmento apical (fig. 9a, SH).

De especial interêsse é a inserção dos grupos dos músculos MUD que fortalece durante a picada o fechamento do sulco labial existente sempre pela elasticidade da quitina. Esta necessidade surge da pressão aumentada no momento da entrada das mandíbulas no tecido do hospedeiro. Uma abertura forçada do sulco e com isto uma torsão dos estiletes são evitados pela contração dêstes grupos de músculos. Na ponta do segmento medial inserem-se os primeiros feixes de MUD por um par de tendoes (fig. 9b, SH) nas beiras do sulco. O tendão é ligado no começo adicionalmente por tonofibrilas soltas com as beiras. O par dos tendões fecha-se logo em seguida (depois do primeiro quarto do comprimento total do segmento medial) por baixo do sulco labial terminando sòmente pouco antes da base do segmento. A contração de MUD é transmitido pelo tendão e as tonofibrilas para o sulco fortalecendo o seu fechamento. As mesmas condições encontram-se no segmento basal. Pela introdução dêste tendão comum e comprido é fascilitado uma ação uniforme da contração do grupo muscular bem estendido sôbre o fechamento do sulco.

Êste mecanismo falta ao segmento apical porém a tensão para o fechamento do sulco no momento da picada dos estiletes é conseguida por transmissão direita da contração de MUD pela listra quitinosa na profundidade do sulco labial no segmento apical (CL em fig. 8).

O aspecto do corte (fig. 8) do segmento apical fica mantido até pouco antes da ponta. Aproximadamente 200 micra antes da ponta a

listra quitinosa une-se a parede externa ventral do segmento dividindo a sua cavidade em duas partes (fig. 11 d). Em redor da parte interna do sulco labial forma-se um par de espaços intermediários do qual sai em 60 micra antes da ponta (fig. 11 c) uma outra cavidade arredondada a qual coloca-se ventralmente por baixo do sulco. Enquanto que os primeiros espaços intermediários desaparecem em 15 micra antes da ponta (fig. 11 a), a parte quitinosa em redor da cavidade impar separou-se em 60 micra da sua vizinhança de modo que forma-se uma saliência móvel que segue na continuação do fundo do sulco labial até o fim do lábio. De P 60 em diante o sulco labial não está mais fechado constando o segmento apical aqui de duas metades indepedentes deixando na parte ventral na sua área de contato uma cavidade na qual (como continuação do sulco labial) correm os estiletes e a qual é fechado ventralmente pela saliência citada (fig. 11a e 11b). A parte interna da saliência é fortemente quitinisada e age como uma mola em forma de uma fôlha de modo que a saliência sempre fica na cavidade entre as duas metades do segmento apical. Por esta razão a saliência é encontrada sòmente raras vêzes em preparados totais.

Uma outra formação especial mostram as partes quitinosas da ponta. Para a observação das partes do esqueleto foi preparado uma série de cortes transversais (n.º 222 L) com vermelho de congo (1% em álcool de 96% a 60º durante 2 horas) depois de um tratamento com ácido fosfortúngstico (1% em álcool absoluto a 60º durante 6 horas). Assim conseguiu-se uma seperação nítida entre exocutícula (amarela) e endocutícula (vermelha). Já em P 105 a exocutícula nos seus lados aumenta de grossura (fig. 11 d, MK_2). Em P 60 a endocutícula desapareceu nêsses pontos e o esqueleto mostra aqui uma listra forte e elástica. Nas áreas internas de contato formam-se em MK_1 outras estruturas exocuticulares que em P 30 juntam-se às externas formando uma cavidade. Assim forma-se uma forte parte elástica de ambos os lados que anula quaisquer modificações da forma na ponta do segmento apical. Que estas partes são mecânicamente bastante aproveitadas verifica-se em P 15 aonde existe a listra interna e que está ligada por estruturas fibrilosas nítidas à endocutícula (fig. 11 a, TO).

Nesta altura deve ser citada uma formação especial que encontra-se no canal dos estiletes e a qual até agora na literatura ainda não foi mencionada. A parede do canal possue nos seus últimos 200 — 300 micra sulcos longitudinais nas cujas beiras em pequenas distâncias encontram-se espinhos quitinosos finos e curtos (3 — 5 micra). As mandíbulas (menos as maxilas) têm no lado externo também sulcos longitudinais. A altura dos sulcos longitudinais diminui na proporção que se aproximar à cabeça. Quando em repouso encontram-se até ao meio do lábio sulcos longitudinais profundos. Na cavidade bocal podem ser reconhecidas ainda estruturas longitudinais baixas. Na posição natural a parede do canal está em redor das mandíbulas de forma que os espinhos durante o movimento das mandíbulas passam ao longe destas últimas. É provável que com isto é conseguido uma limpeza das mandibulas quando elas voltam da ferida da picada. Êste meca-

nismo é descrito como escova das mandíbulas (fig. 11 a — d, MB e fig. 12 MB).

Da arrumação descrita das partes da exocutícula na ponta do segmento apical deve ser concluído que essas partes agem quando em repouso como uma mola e que elas mantém juntas as metades do segmento apical. Como por meio da sua parede interna reforçada a saliência citada também é empurrada para dentro, verifica-se um estreitamento do canal dos estiletes por meio do qual os estiletes são segurados na sua posição atual pela elasticidade da quitina.

Que êste mecanismo (aparelho de fixação das mandíbulas) não é afroxado pela pressão do lábio na epiderme do hospedeiro durante a picada, conclue-se das observações no animal narcotisado o qual pode movimentar normalmente os estiletes em ambas as direções. A abertura do aparelho de fixação das mandíbulas pode assim ser conseguida sòmente por movimentos de músculos. Como no segmento apical não são encontradas músculos, os músculos do segmento médio foram submetidos à uma observação crítica. Verificou-se que para o afroxamento do aparelho de fixação das mandíbulas são utilisados os dois grandes músculos longitudinais do segmento médio. Os músculos inserem-se em numerosos fascículos separados numa grande área na parede dorsal na parte basal do segmento médio possuindo cada um um tendão de 1 800-2 000 micra de comprimento que insere-se no lado da margem basal do segmento apical (fig. 6). O mecanismo do aparelho de fixação das mandíbulas deve ser anilisado na sua função anatômica como segue:

Quando em repouso os estiletes na ponta do lábio são mantidas pela saliência que é introduzida por seu efeito de mola elástico para dentro do sulco, sob a pressão das partes elásticas da exocutícula, principalmente sob o efeito das duas molas laterais, ficando assim segurados. No caso que os estiletes estão para se movimentar na direção longitudinal, contraem-se os dois músculos longitudinais (fig. 6 MUL) do segmento médio ao mesmo tempo. O segmento apical não pode seguir inteiramente à pressão dos seus tendões pois pelas articulações na linha mediana e pelas listras de reforçamento que partem destas, a entrada para dentro do segmento medial é impedida. A pressão dos tendões sòmente age sôbre as linhas laterais do segmento apical. Em conseqüência disto forma-se na última extremidade do lábio uma dilatação entre os dois lados do lábio durante o qual as partes exocuticulares das duas molas laterais representam os lados do triângulo da dilatação. A saliência agora não está mais fixada e os estiletes são móveis. Durante o afroxamento dos músculos (MUL) os estiletes são mantidos pela elasticidade da quitina na sua posição atual.

O aparelho de fixação das mandíbulas está anatômicamente no lado oposto aos "*fingerfoermigen Fortsaetzen*" encontrados nos *Homoptera*. Enquanto que nestes últimos são utilisados músculos especiais para a abertura, nos *Triatominae* uma musculatura já existente e ainda ocupada com a sua finalidade primitiva (de movimentar o segmento apical) ao mesmo tempo com uma outra tarefa (de abrir o aparelho

de fixação das mandíbulas). Isto pode acontecer porém só com uma contração simultânea isto é que os músculos numa determinada reação dos nervos movimentam o segmento apical para o lado (impulsos alternativos), numa outra porém afroxam o aparelho de fixação das mandíbulas (impulsos coordinados). Resumindo temos até agora para o mecanismo da picada as seguintes fases diferentes:

1. Saída do lábio da posição de repouso pela contração dos adutores do lábio.
2. Contração simultânea dos dois músculos longitudinais (MUL) no segmento médio do lábio e afroxamento do aparelho de fixação das mandíbulas.
3. Contrações simultâneas e alternativas dos músculos protratores dos estiletes.
4. Afroxamento dos MUL (repetida freqüência dos movimentos 2 — 4 até estiver esgotada a capacidade de contrações dos protratores das mandíbulas. Segue:)
5. Afroxamento dos protratores.
6. Contração dos retratores. Com isto a alavanca de articulação das mandíbulas é reconduzida; os protratores são novamente estendidos. Êste movimento é possível pois no fim da mandíbula sob a formação de dobras esta última transgride para dentro do canal tentorial de condução, isto é o órgão em forma de retorta, é encolhido como dedo de uma luva e a parte mais carregada das tonofibrilas no fim da mandíbula é colocada mais para cima.
7. O avanço dos estiletes pode ser continuado ainda começando com n.º 2 (veja acima) até o esgotamento da fonte de alimentação, agora a faringe pode sugar o alimento pelo canal de sucção das maxilas.

A retração procede-se por uma combinação de movimentos por sentido inverso durante a qual as dobras nos canais tentoriais são novamente aplanadas e o encolhimento no fim das mandíbulas é anulado. Desta forma é reconstituída no feixe das tonofibrilas (para a alavanca de articulação das mandíbulas) a pressão primitiva das fibrilas inferiores do ponto da transgressão.

5. O órgão de contrôle das mandíbulas.

Conforme das pesquisas de Gulde, Weber, Zweigle e outros autores como também de acôrdo com os resultados e as observações do animal vivo supercitadas o mecanismo de movimento dos estiletes é esclarecido tanto que pode ser apresentado um quadro definitivo. Da mesma forma deve ser aceito como provável que os *Hemiptera* são capacitados de orientar a direção do feixe de estiletes para a fonte mais favorável de alimentação. Como pode ser constatado fàcilmente das observações no animal vivo, os *Triatominae* são conduzidos pelo sentido olfatório ao hospedeiro de uma distância mais ou menos grande.

Os órgãos olfatórios encontram-se nas antenas (WIGGELSWORTH). Deve ser mencionado aqui que eventualmente também uma percepção de calor, pelo menos quando em pequena distância, é capaz de ter papel ativo (WIGGELSWORTH, BARTH). Não pode ser observada aqui que ratos recentemente sacrificados mas já frios exercem um efeito atrativo sôbre *Triatominae* famintos. A escolhe do substrato e do lugar para a picada é feita pela ponta do lábio que possue na sua extremidade um número de corpos sensíveis curtos em forma de cúpula e de parede fina aos quais deve-se atribuir a recepção de estímulos químicos. Além disso o segmentos apical inteiro possui cerdas sensíveis para estímulos tácteis que correspondem ao tipo apresentado na fig. 13.

Para dentro do tecido do hospedeiro entram sòmente os estiletes que são exclusivamente de quitina. Êstes não têm corpos sensíveis nem nervos. Assim, de um lado, dependia do acaso se o animal encontra na picada uma veia rica, respectivamente deve picar repetidas vêzes. De um lado os estiletes deviam perfurar as veias ultrapassando assim a sua finalidade se não fôsse possível um contrôle momentâneo da picada. Esta dúvida foi estudada por vários autores (WEBER, ZWEIGELT) e ainda discutida. Segundo WEBER tem duas possibilidades de contrôle: De um lado a intensidade e a variação da pressão por meio de transferência direita de pressão por meio dos estiletes duros durante a penetração do tecido do hospedeiro podem dar ao animal uma orientação. De outro lado é conseguido pelo órgão de paladar na epifaringe um contrôle químico do sangue admitido que também age como estímulo de orientação. Esta última hipótese é sem dúvida o caso nos *Triatominae* pois o órgão epifaringeal é aqui bem desenvolvido (BARTH, 1952). A percepção da pressão, porém, segundo WEBER, procede-se nos órgãos em forma de retorta isto é nas bases dos estiletes. Uma observação destas partes provou porém apenas a presença de fios terminais de nervos relativamente poucos e livres. Não pode ser observada qualquer inervação especialisada. A observação da função anatômica de numerosos órgãos de animais, principalmente dos insetos, mostra que os órgãos de importância descisível para a manutenção da espécie são orientados por órgãos sensíveis especiais. Com relativa freqüência encontram-se tais combinações entre os aparelhos de sexo, de movimentos e de alimentação de um lado e de outro lado órgãos sensíveis correspondentes de modo que deve tratar-se aqui de complexos de aparelhos funcionais. A interrupção do complexo nem sempre impede a função do órgão correspondente, mas sim a combinação com os fatores externos provocando assim a morte individual mais ou menos prematura periditando a sobrevivência da espécie. No caso presente trata-se do complexo de alimentação que deve ficar assegurado em todas as circunstâncias de forma que resulta de uma maneira especulativa a necessidade de um órgão sensível que acompanha as mandíbulas. O estudo crítico de algumas séries de cortes transversais (67, 85, 192, 222) mostra a presença de um órgão até agora não descrita na literatura, que revelou-se durante uma análise mais detalhada como órgão sensível complicado destinado ao contrôle do movimento das mandíbulas:

Para ver a formação e construção dêste órgão veja fig. 14 e 15. Consta de uma evaginação grandemente especialisado no fim do ramo parietal do tentório. Esta invaginação vira para o lado da cabeça como um prolongamento muito fino, encosta-se com um aumento em forma de vesícula à alavanca de articulação da mandíbula e entra nas antenas em forma de um tubo. O fim dêste tubo é pendurado com dois feixes de tonofibrilas pouco antes da ponta da antena nas parades da mesma. Na ponta do pedicelo entre a cova das cerdas (BARTH, 1952) e o órgão de JOHNSTON êsse tubo emite um único scolopídio grande para as paredes da antena. O ramo centripetal da célula sensível tem conexo ao interno dos dois ramos do nervo antenal (Na I). O percurso do órgão (chamado daqui em diante OX) é descrito em seguida a partir do seu desvio do tentório. Êste ponto foi escolhido como ponto de referência (P1). A posição dos pontos descritos pode ser verificada no esquema geral de OX em fig. 14.

P 1-3 (fig. 16 a-c): P 3 (fig. 16 c) dá uma orientação sôbre a posição do fim do tentório no corte transversal. A parte médiana é fortemente esclerotisada e fixada com tonofibrilas na placa inferior da faringe. Por cima do ângulo da articulação de faringe fica a maxila com os seus protratores (MUX) e o fim da mandíbula (igual a órgão em forma de retorta). As traquéias fortes são ramificações da traquéia principal da cabeça que alimentam os dilatatores da faringe com ar. Vistos dos citados músculos para a parede do corpo (parte traçada) encontra-se o início do tubo de OX separando-se do tentório. Esta separação começa em P 2 (fig. 16 b), enquanto que P 1 (fig. 16 a) reproduz o fim do tentório com a parte que separa-se apontilhada.

P 4-8 (fig. 16 d-g): A parte do tentório que dirige-se à cabeça anterior arredondando-se mais ou menos para uma forma de um tubo diminuindo o seu diâmetro (P 4). A quitina no seu lado interno é muito fina proporcionando com vermelho de congo porém uma coloração nìtidamente vermelha. O protoplasma é pobre de núcleos e fibriloso. Entre P 3 e P 5 o diâmetro diminue fortemente encontrando-se nesse ponto o tubo completamente fechado. De P 6 em diante o tubo começa ampliar-se de repente formando em seguida o aumento em forma de vesícula atingindo o seu diâmetro maior em P 8. Enquanto que o tubo até P 6 fica livre na cavidade crâniana entre os olhos, o aumento é fixado por tonofibrilas na parede da cabeça e nos órgãos vizinhos.

P 9 (fig. 16 i): A vesícula aproxima-se à alavanca de articulação da mandíbula e é ligada com esta por tonofibrilas respectivamente encosta-se na hipoderme desta.

P 10-16 (fig. 16 k-q): Na vesícula forma-se no meio paralelamente à alavanca de articulação da mandíbula uma parede de separação (SW em fig. 16 k-m), a qual separa distalmente uma parte (P11) ficando a parte proximal na alavanca de articulação e terminando poucos micra em diante (P 14). A parte que separa-se está ligada sòmente no começo por tonofibrilas à alavanca de articulação. Ela diminue o seu diâmetro arredondando-se para um tubo (em seguida chamado tubo antenal)

(P15 e P16). Em P 16 o tubo antenal distancia-se da alavanca de articulação entrando no complexo das antenas composto do *nervus antenalis,* da traquéia das antenas e dos dois tendões dos *musculi addutor* e *abdutor antenae*. Daqui em diante o OX acompanha a antena inteira paralelamente à traquéia da antena com a qual mantem-se ligada mais ou menos firmemente.

P 17 (fig. 16 r): Corte transversal pelo fim do tubérculo da antena com a extremidade basal do scapus. O nervo antenal divide-se nessa altura. Daqui em diante a antena possui até a ponta dois ramos de nervos (Na I no lado interno e Na II no lado externo da antena).

P 18 (fig. 16 s): Corte transversal pela parte basal do pedicelo com os dois ramos de nervos, com a traquéia principal e o tubo antenal do OX.

P 19 (fig. 16 t): Corte transversal pouco antes do fim do último segmento antenal. As numerosas cerdas sensíveis não foram marcadas. Na hipoderme fina estão muitas células sensíveis cobrindo em parte completamente as células da hipoderme. Através da antena estende-se um complexo formado pelo tubo antenal do OX, da traquéia principal e de numerosas tonofibrilas que aparentemente encostam-se às células sensíveis, na realidade, porém, inserem-se na membrana basal da hipoderme deslocadas por estas últimas.

O sistema inteiro da ampliação na alavanca de articulação até a ponta é cheio de um líquido que pode ser representado com todos os fixadores usados (Carnoy, Bouin, Flemming, Gilson, Susa e Zenker). Durante o percurso inteiro através da antena o OX está encostado à traquéia das antenas enquanto que não tem ligação em nenhum ponto com a parede das antenas fôra do último pedaço no último segmento do flagelo.

Uma comunicação com o sistema nervoso e uma ligação indireta à parede das antenas encontra-se no último pedaço de pedicelo pouco antes de órgão de Johston. Êste último sofreu apenas uma evolução relativamente pequena. Consta de um número maior (45-50) de scolopídios inserindo-se de um lado no fim do pedicelo, no outro lado na parede das antenas. Elas estão agrupadas sem ordem visível no pedicelo inteiro. Os seus fios nervosos centripetais juntam-se em 4 fascículos dos quais cada vez 2 entram em um dos 2 nervos das antenas. As camadas da endocutícula, grandemente aumentada na ponta do pedicelo, abrem-se formando lamelas orientadas verticais à exocutícula mais fina. Para dentro da endocutícula saiem da exocutícula 4 listras quitinosas (fig. 7 CSP) que contribuem para a resistência da cutícula enfraquecida pela modificação. Os scolopídios não começam nas listras mas exclusivamente na exocutícula mais fina. Por entre as lamelas penetra a célula apical do scolopídio com um tubo quitinoso muito fino que apresenta-se distalmente como invaginação da exocutícula (fig. 18, CRM) formando proximalmente o corpo em forma de preguinho ("stiftfoermigen Koerper").

Para a seguinte explicação veja as fig. 19 e 20. Pouco atrás do começo da parte cilíndrica do pedicelo encontra-se no lado dorsal um pe-

queno ponto oval com uma cutícula mais fina (endocuticula e exocutícula mais finas) aonde o scolopídio do OX se insere (fig. 15, OV). A inserção é feita por um tubinho quitinoso muito fino como nos scolopídios do órgão de Johnston. O diámetro da sua entrada na cutícula é de aproximadamente 0,9 a 1,1 micron, o diámetro na saída da hipoderme é de 1,4 a 1,6 micron, o diámetro interno nessa altura é de 0,5 a 0,7 micron de forma que a grossura da parede deve ser aproximadamente 0,45 micron. Durante a penetração pelo sincício da hipoderme uma célula hipodermal (com limites nítidos) deita-se em redor do tubinho. Ela deve ser designada conforme os trabalhos de SCHWABE e de outros autores como célula apical. A sua forma lembra um cilindro, o seu protoplasma mostra nìtidamente uma estrutura com listras longitudinais. No seu último pedaço o tubinho quitinoso entra para dentro da célula involucrante oviforme com protoplasma fôfa em forma de favo. A sua parede até agora uniforme forma aqui aproveitando o diámetro interno 3 reforços que encontram-se no eixo longitudinal do tubinho deixando aqui apenas uma passagem muito fina. Logo em seguida o tubinho aumenta em forma de uma vesícula. De cada um dos 3 reforços da quitina desenvolvem-se por divisão par primeiramente cada vez, 2 pouco depois 4 listras longitudinais inicialmente finas aumentando de grossura no meio da vesícula oval para em seguida diminuir a sua grossura. Pouco antes do fim da vesícula reunem-se cada vez duas listras numa só de forma que o final e a saída da vesícula estão apoiados por 6 listras. Depois de um curto canal o complexo aumenta-se para uma vesícula elipsoidal maior (correspondendo ao vacúolo dos autores citados) com uma parede muito fina apoiada, porém, pelas 6 listras quitinosas. Êste sistema de listras longitudinais alternativas corresponde ao corpo em forma de preguinho ("stiftfoermiger Koerper") do scolopídio normal dos insetos como descrito, entre outros, por SCHWABE. O material das listras longitudinais e de ambas as vesículas é de exoquitina conforme o achado microanatômico, pois tem a mesma afinidade aos corantes.

Na altura entre as duas vesículas termina a célula apical. Em redor da segunda vesícula encontra-se um prolongamento da célula sensitiva situada abaixo da vesícula. A célula apical e a célula sensitiva são envolvidas por um número de células fibrilosas formando em seguida o ligamento ao OX.

Dos 3 reforços da quitina do começo da primeira vesícula nasce um fio nervoso (fio terminal) cujo diámetro é abaixo de 0,2 micron não podendo ser reconhecidas estruturas duplas. A maneira de inserção não pode ser esclarecida por causa das estruturas finas nem com ampliações mais fortes. O fio parece aumentar aparentemente um pouco em forma de um botão enchendo o canal entre os reforços. Êle percorre em linha reta a primeira vesícula, o canal e a segunda vesícula perfurando a no seu pólo basal entrando assim na célula sensitiva. Esta última amplia-se, depois de um curto estreitamento abaixo da segunda vesícula, em forma de pera e tem um núcleo bem grande o qual aproxima-se no seu diámetro à grossura do tubo antenal do

OX. O fio terminal que entra na célula sensível divide-se nesta num número maior de fios separados que reunem-se no pólo proximal da célula num feixe com 0,4 a 0,5 micron de grossura que por sua vez entra no prolongamento centripetal da célula abandonando com êste o agrupamento das células fibrilosas.

As células fibrilosas no número de 8 a 12 entre a célula sensível e o OX formam o ligamento situadas uma atrás da outra e parcialmente encostando-se com paredes diagonais. O seu protoplasma é agrupado em estruturas fibrilosas paralelas ao comprimento das células. No OX insere-se a última célula ou o último par de células fibrilosas na membrana basal. O ligamento não é uma bifurcação do canal antenal do OX mas sòmente uma ligação entre a hipoderme do canal com a hipoderme da parede das antenas na forma de uma série de células cujo protoplasma mostra linhas em direção da tensão as quais devem ser consideradas talvez tonofibrilas.

O órgão foi encontrado numa forma semelhante tanto nas cabeças das formas hematófagas *Triatoma megista* e *sordida* e *Rhodnius prolixus* como também nos predatores *Sirthena stria, Bactrodes bimaculatus* e *Zelus leucogrammus* e nas formas fitófagas *Edessa rufomarginatus, Leptoglossus spp., Acanthocephala latipes* e *Mecistorhinus mixtus*.

A função dêste órgão resulta da sua anatomia em comparação com o animal vivo: A ligação entre o fim do tentório e do aumento em forma de vesícula na alavanca de articulação das mandíbulas está fechada. A vesícula do OX e o tubo antenal estão cheios de um líquido. Um movimento para frente da mandíbula por meio de alavanca de articulação provoca uma extensão da vesícula na direção longitudinal e com isto pela diminuição do diámetro um aumento da pressão do líquido o qual continua no tubo antenal do OX e é recebido pelo scolopídio.

Uma observação em *Heteroptera* sugando (principalmente nítido nas formas predatores como *Zelus leucogrammus*) mostra que o escapo é estendido em forma típica pouco antes e durante a picada em direção para cima e para fóra como reproduzido em fig. 22. Os outros membros são virados para baixo por aproximadamente 60° a 70°. No começo da sucção as antenas estão estendidas movimentando-se para cima e para trás. Com cada picada nova verifica-se uma igual modificação nova dos segmentos das antenas. Êste movimento típico deve ser coordinado com a função do OX de forma que pelo desdobramento a parede do órgão, principalmente da vesícula do OX, encontra-se estendida a fim de perceber imeditamente o aumento de pressão. Êste é possível pois o tubo antenal necessita com segmentos enrolados um caminho maior até a ponta das antenas do que com a antena estendida pois o número dos limites entre os segmentos das antenas é dobrado pela intermissão dos segmentos intermediários e que os estreitamentos penetram profundamente na antena.

Não ficou esclarecida a origem do líquido na vesícula do OX e no tubo antenal do OX.

6. Resumo.

É analisado o mecanismo da picada dos *Triatominae* sob a consideração das observações até hoje conhecidas em *Heteroptera* e *Homoptera*. Leva à conclusão que os dados da literatura não chegam para esclarecer o mecanismo da picada dos *Triatominae*.

Dos resultados das pesquisas e observações do animal vivo surge o seguinte quadro:

Uma contração extremamente forte do músculo protrator pode mover as mandíbulas do adulto de *Triatoma infestans* para frente no máximo por 500 micra.

Uma fonte de alimentação suficiente pode ser encontrada na epiderme do hospedeiro (homen) apenas numa profundidade de pelo menos 1 000 a 1 500 micra.

O lábio nem pode ser encurtado nem dobrado.

Correspondendo aos *"fingerfoermigen Fortsaetzen"* (Weber) encontra-se na ponta do último segmento labial um mecanismo para a fixação das mandíbulas numa certa posição. Depois do esgotamento das possibilidades de contração dos protratores das mandíbulas as últimas são fixadas na posição atual. Em seguida segue uma dilatação dos protratores e depois do relaxamento do aparelho de fixação das mandíbulas os protratores são capazes de mover novamente as mandíbulas por quasi 500 micra para frente. Êsse processo pode ser repetido umas vêzes .

Com o aparelho de fixação é ligado um mecanismo para a limpeza das mandíbulas na parte apical do último segmento labial em forma de uma escova.

Na cabeça dos *Triatominae* é situado um órgão de contrôle muito complicado para estímulos mecânicos controlando a entrada das mandíbulas no tecido do hospedeiro. (O órgão receptivo correspondente para estímulos químicos é o órgão gustativo da epifaringe, já descrito umas vêzes.)

O órgão representa um prolongamento do fim do tentório tubiforme dirigindo-se para frente. Perto da alavanca de articulação das mandíbulas o tubo, cheio de um líquido, aumenta-se formando uma vesícula que se insere na alavanca citada e na parede da cabeça diretamente ou por meio de tonofibrilas. Daqui o tubo continua pela antena inteira e insere-se, fechado no fim, por dois feixes de tonofibrilas fortes na extremidade do último segmento antenal.

Imediatamente antes do órgão de *Johnston* insere-se no tubo do órgão de contrôle um scolopídio grande com a contrainserção na parede da antena (pedicelo). Cada tensão na vesícula na alavanca de articulação da mandíbula altera a pressão no líquido do órgão. A alteração da pressão é percebida pelo scolopídio.

O scolopídio possui um aparelho terminal que representa uma invaginação da cutícula da parede antenal. Esta formação encontra-se também nos scolopídios do órgão de *Johnston*.

O órgão pertence tanto às formas hematófagas dos gêneros *Triatoma* e *Rhodnius* como também à várias formas predatoras e fitófagas. Pode-se supor que o órgão é presente num grande número dos *Heteroptera* e que, eventualmente, representa uma parte do plano geral da ordem. O grau da evolução muito elevada deste órgão de contrôle indica que tem um papel importante para a manutenção da vida das espécies.

7. *Literatura*.

(Veja no fim da parte em alemão).

8. *Abreviações nas figuras*.

AA	parede externa das antenas
AC	anteclípeo
AG	segmento apical
AH	alavanca de articulação da mandíbua
AH'	hipoderme da alavanca de articulação da mandíbula
AN	antena
BG	segmento basal
BK	célula sanguínea
BO	cerda
BR	cova das cerdas
BW	bucculae
CL	listra quitinosa
CL'	começo da listra quitinosa
CO	olho complexo
CR	tubinho quitinoso
CRM	tubinho do scolopídio com abertura
CSP	listra quitinosa
CU	cutícula
CV	aumento da quitina
d	dorsal
DIL	dilatatores da faringe
do	dorsal
DOX	teto da vesícula do órgão de contrôle
EN	endocutícula
EX	exocutícula
F	papel de filtro
FU	fulcrum
FZ	célula fibrilosa
G	gaze
GE	ponto da articulação
GG_1, GG_2	1.º e 2.º segmento do flagelo
HMD	cavidade da mandíbula
HMX	cavidade da maxila
HYP	hipoderme
HZ	célula involucrante

IO órgão de Johnston
K cortiça
K_1 ponto de articulação ventral no segmento médio
K_2 ponto de articulação dorsal no segmento médio
K_{11} ponto de articulação ventral no segmento apical
K_{21} ponto de articulação dorsal no segmento apical
KO canal tentorial da mandíbula
KA cabeça
KW parede da cabeça
KZ célula apical
l esquerdo
LA lamelas
LB lábio
LI ligamento
LEI listras longitudinais
LM lâmina mandibularis
LR labro
LRI sulco labial
LX laminae maxillaris
MB escova das mandíbulas
MG segmento médio
MK aparelho de fixação das mandíbulas
MK_1 MK_2 restos do aparelho de fixação das mandíbulas
MU músculo
MUD músculos diagonais do lábio
MUP protrator das mandíbulas
MX maxila
N nervo
NA nervo antenal
NaI, NaII ramo interno e externo do nervo antenal
ND fio nervoso
NF núcleo da célula fibrilosa
NH núcleo da célula involucrante
NIO nervo do órgão de Johnston
NK núcleo da célula sensível
NKA canal de sucção
NL nervus labialis
NS ramo nervoso ao scolopídio do órgão de contrôle
NX núcleo do tubo antenal
NZB célula nervosa sensitiva bipolar
OC ocelos
OV ponto oval fino na parede da antena
OXA tubo antenal do órgão de contrôle
OXB aumento vesicular do órgão de contrôle
OXT tubo tentorial do órgão de contrôle
PD pedicelo
PH faringe
r direito
RO órgão em forma de retorta
SA scapo
SB estiletes
SC scolopídio
SG canal de saliva
SH tendão
SH_1, SH_2 primeiro e segundo tendão da antena
SIO scolopídio do órgão de Johnston

SK canal de saliva
SP listra quitinosa
SW parede de divisão
TF célula sensitiva
SZ fio terminal
TK canal tentorial da mandíbula
TO tonofibrilas
TR traquéia
TRA traquéia da antena
TT tentório
v ventral
VA_1 VA_2 primeira e segunda vesícula
ve ventral
VE fechamento do sulco labial
VEX fechamento entre as maxilas
ZG segmento intermediário

Fig. 1: Movimento do lábio da posição de repouso (a) pela posição perpendicular (b) para a posição de picada (c). A linha apontilhada indica a situação dos estiletes (SB) no lábio (LB).

Fig. 1: Bewegung des Labiums aus der Ruhestellung (a) ueber die senkrechte (b) in die Stichstellung (c). Die punkierte Linie gibt den Verlauf der Stechborsten (SB) im Labium (LB) an.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

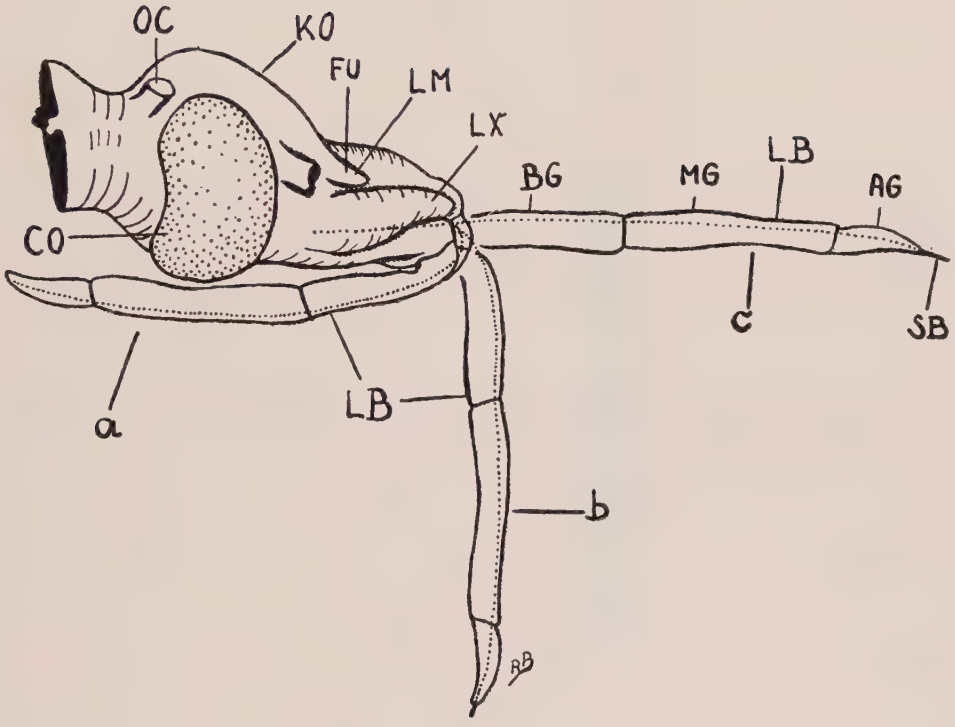


Fig. 1

Fig. 2: Esquema do efeito do musculus protractor mandibulae e da alavanca de articulação das mandíbulas. Explicações veja texto.

Fig. 3: Tubo de observação para o processo da picada (explicações veja texto).

Fig. 2: Schema der Wirkung des musculus protractor mandibulae und des Artikulationshebels auf die Mandibel. Erkaerung siehe Text.

Fig. 3: Beobachtungsroehrchen fuer den Stechvorgang. Erklaerung siehe Text.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

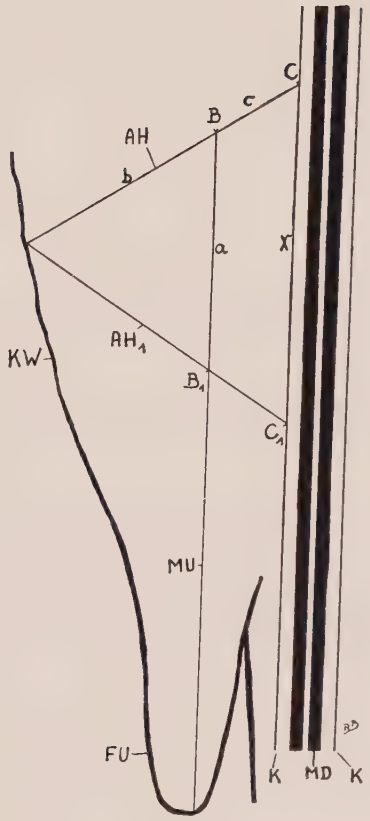


Fig. 2

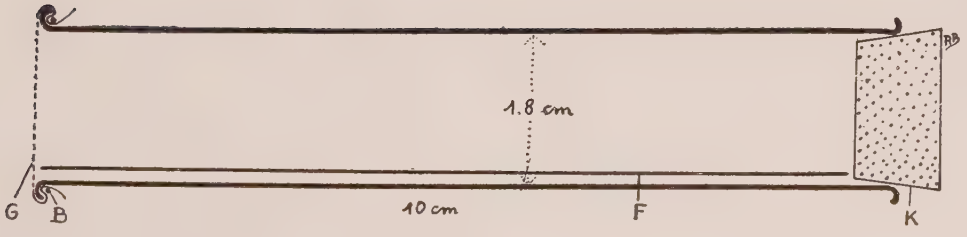


Fig. 3

Fig. 4: a e a_1: Encurtamento do lábio por desdobramento dos segmentos basais (*Cimex*), b e b_1: idem por encaixotamento em forma de telescópico (*Psylla*).

Fig. 5: Possibilidades dos movimentos do lábio de *Triatoma megista*. a) visto de frente, b) visto do lado.

Fig. 4: a und a_1: Verkuerzung des Labiums durch Einwinkeln der basalen Glieder (*Cimex*), b und b_1: idem durch teleskopartige Einschachtelung (*Psyla*).

Fig. 5: Bewegungsmoeglichkeiten des Labiums von *Triatoma megista*. a) von vorne gesehen, b) von der Seite gesehen.

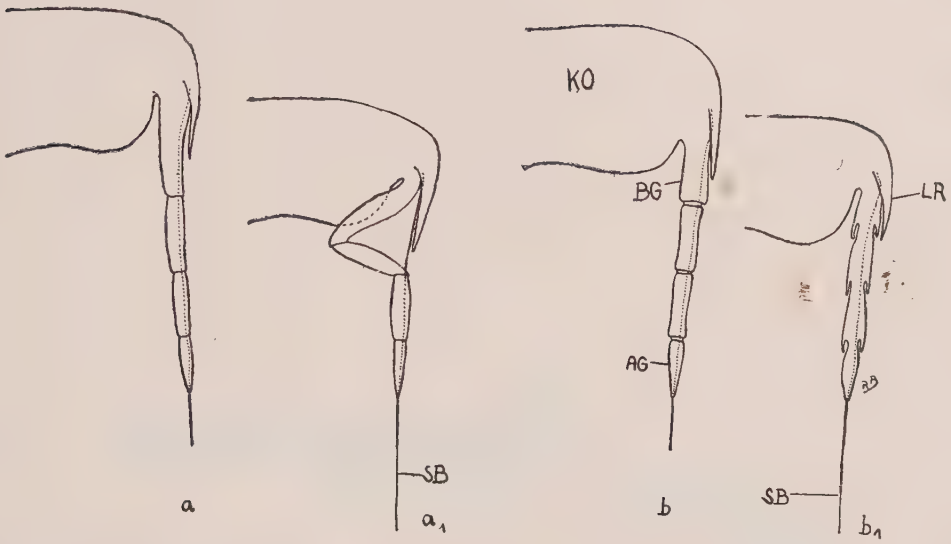


Fig. 4

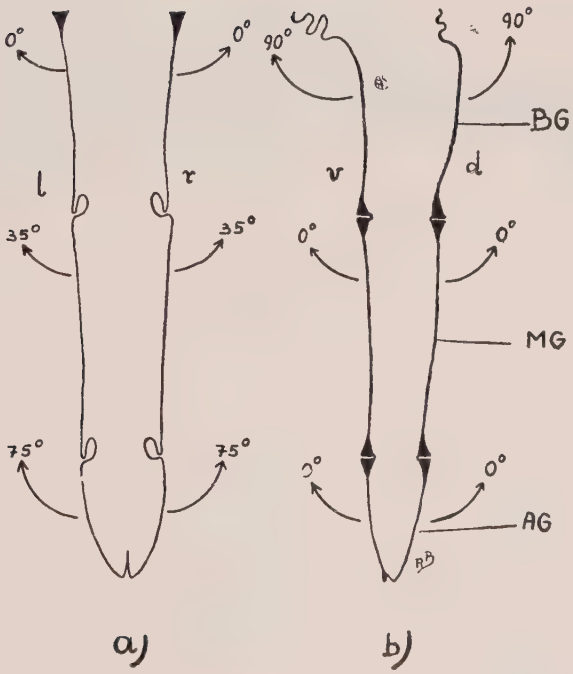


Fig. 5

Fig. 6: Semiesquema do corte longitudinal sagital pela articulação entre segmentos meio e apical para a demonstração dos pontos de articulações dorsal e ventral.

Fig. 6: Halbschematischer, sagittaler Laengsschnitt durch das Gelenk Mittelglied-Apikalglied zur Darstellung des dorsalen und ventralen Gelenkkopfes.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

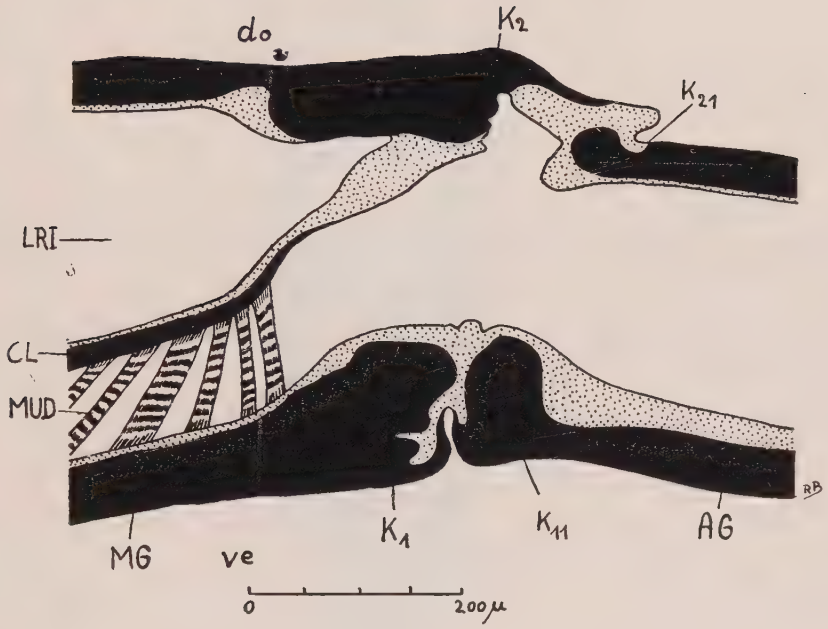


Fig. 6

Fig. 7: Reconstrução dos segmentos mediano e apical. Apenas os músculos estão apresentados.

Fig. 7: Blockdiagramm des Mittel-und Endgliedes des Labiums. Nur die Muskeln sind eingezeichnet.

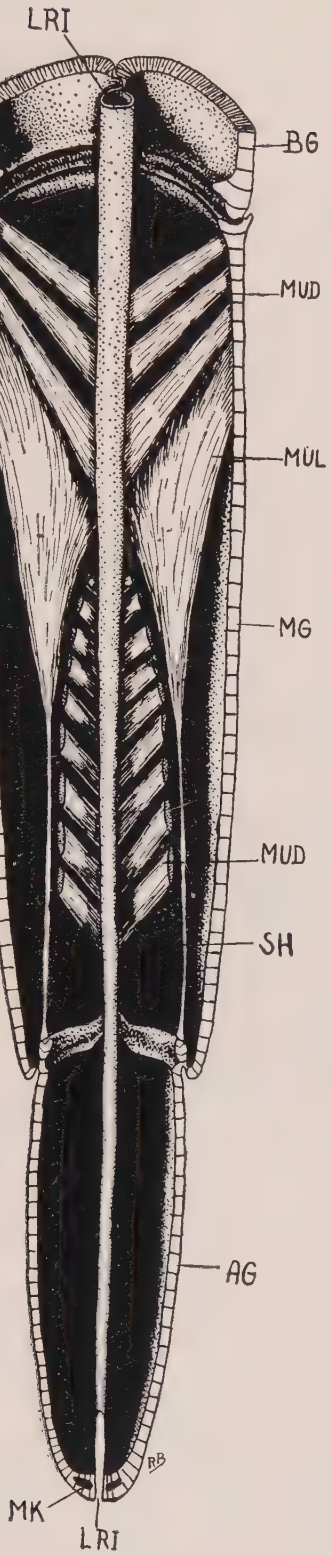


Fig. 7

Fig. 8: Corte transversal pelo meio do segmento apical.

Fig. 8: Querschnitt durch die Mitte des Apikalgliedes.

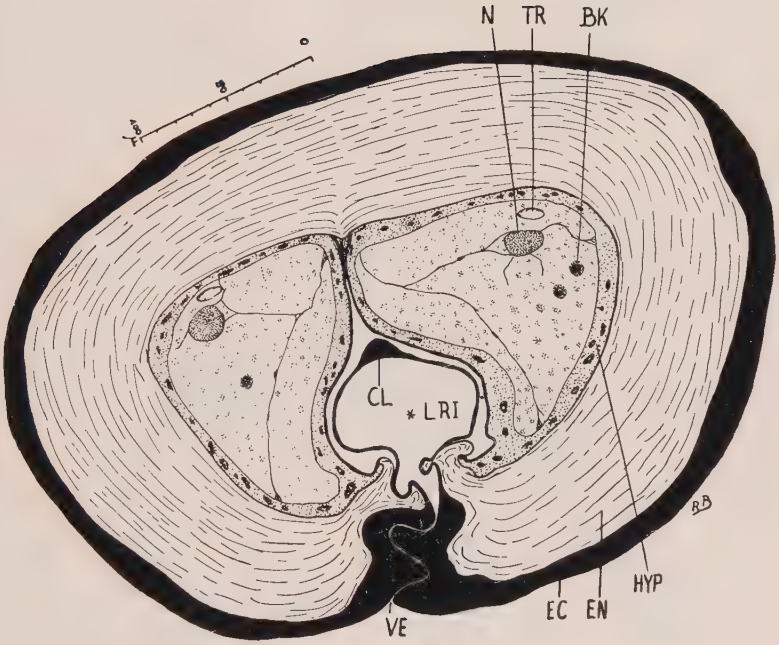


Fig. 8

Fig. 9: Cortes transversais pelo segmento mediano do lábio, a) na articulação entre os segmentos apical e mediano, b) na parte apical, c) na altura das inserções dos primeiros fascículos do músculo longitudinal no tendão (SH), d) quasi no meio do segmento.

Fig. 9: Querschnitte durch das Mittelglied des Labiums, a) im Gelenk zwischen Apikal-und Mittelglied, b) im apikalen Teil, c) am Ansatz der ersten Fasern des Laengsmuskels (MUL) an der Sehne (SH), d) etwa in der Mitte des Gliedes.

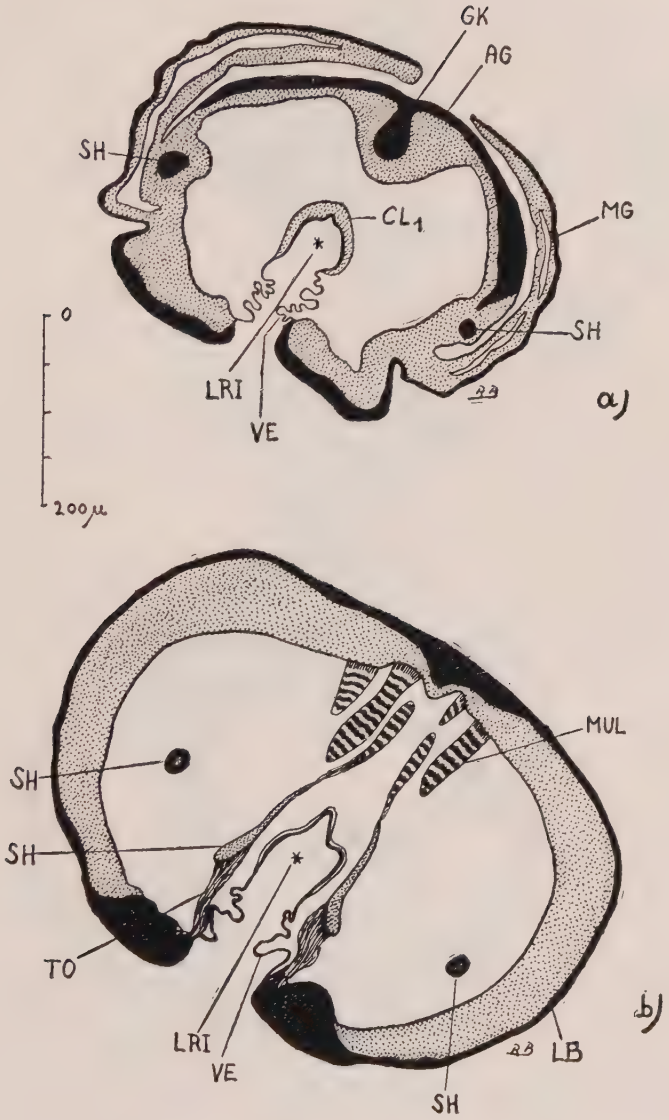


Fig. 9a+b

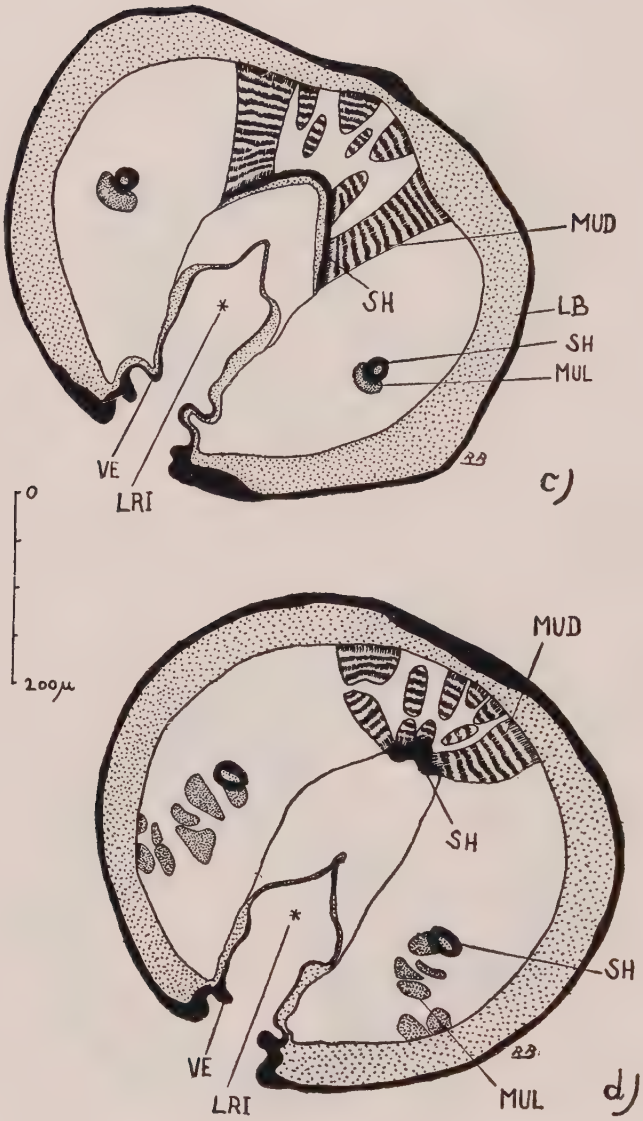


Fig. 9c+d

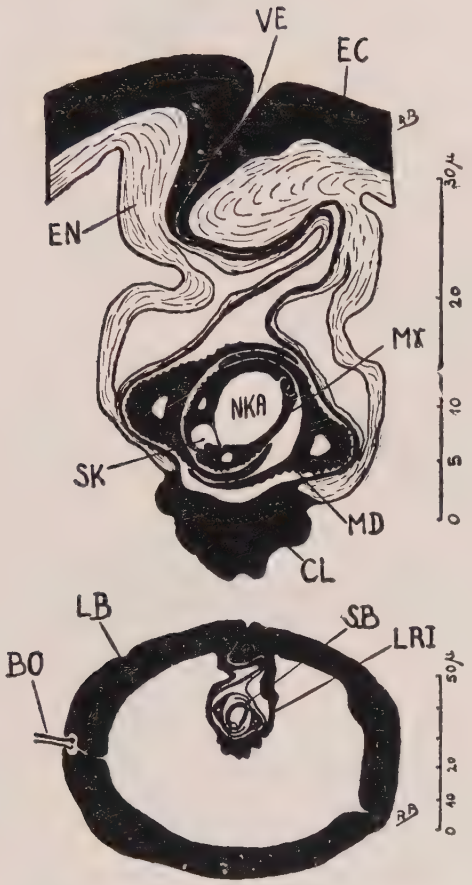


Fig. 10

Fig. 10: Posição dos estiletes no sulco labial do segmento apical (metade basal), abaixo vista geral, acima uma parte mais aumentada.

Fig. 10: Lage der Stechborsten in der Labialrinne des Apikalgliedes (basale Haelfte), unten Uebersichtsbild, oben Ausschnitt staerker vergroessert.

Fig. 11: Cortes transversais pelo segmento apical do lábio. Distâncias da ponta: a) 15 micra, b) 30 micra, c) 60 micra, d) 105 micra. Exocutícula prêta, endocutícula apontilhada.

Fig. 11: Querschnitte durch das Apikalglied des Labiums. Entfernungen vonder Spitze: a) 15 micra, b) 30 micra, c) 60 micra, d) 105 micra. Exocuticula schwarz, Endocuticula punktiert.

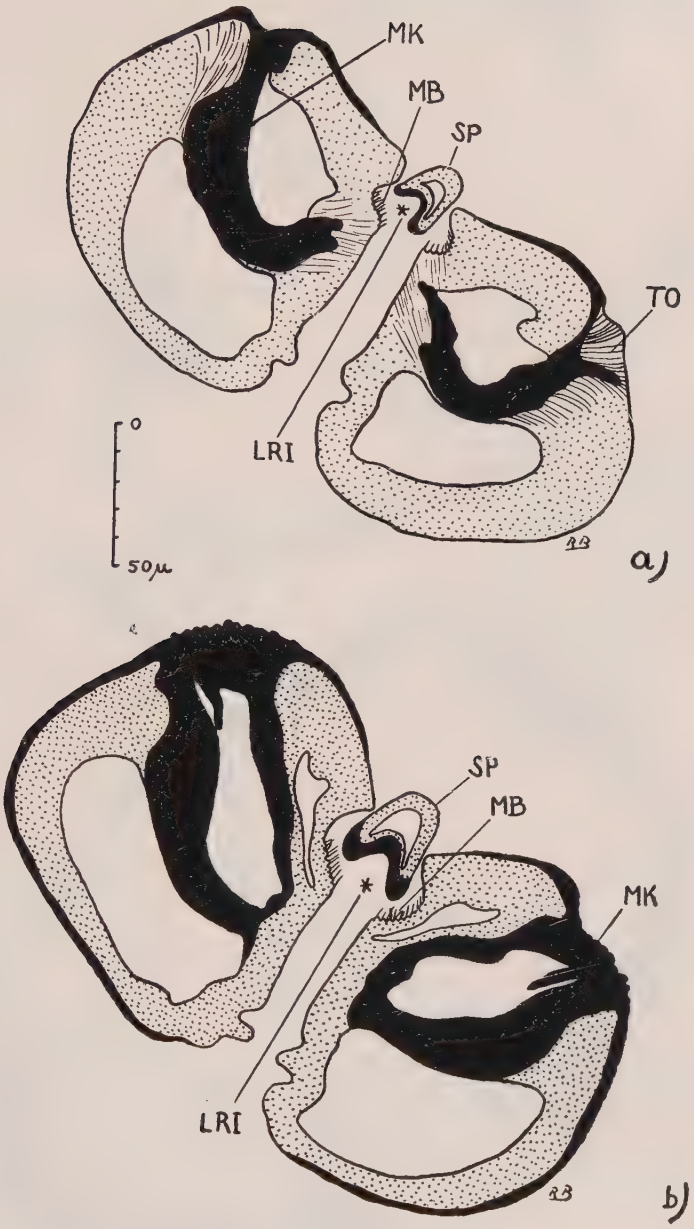


Fig. 11a+b

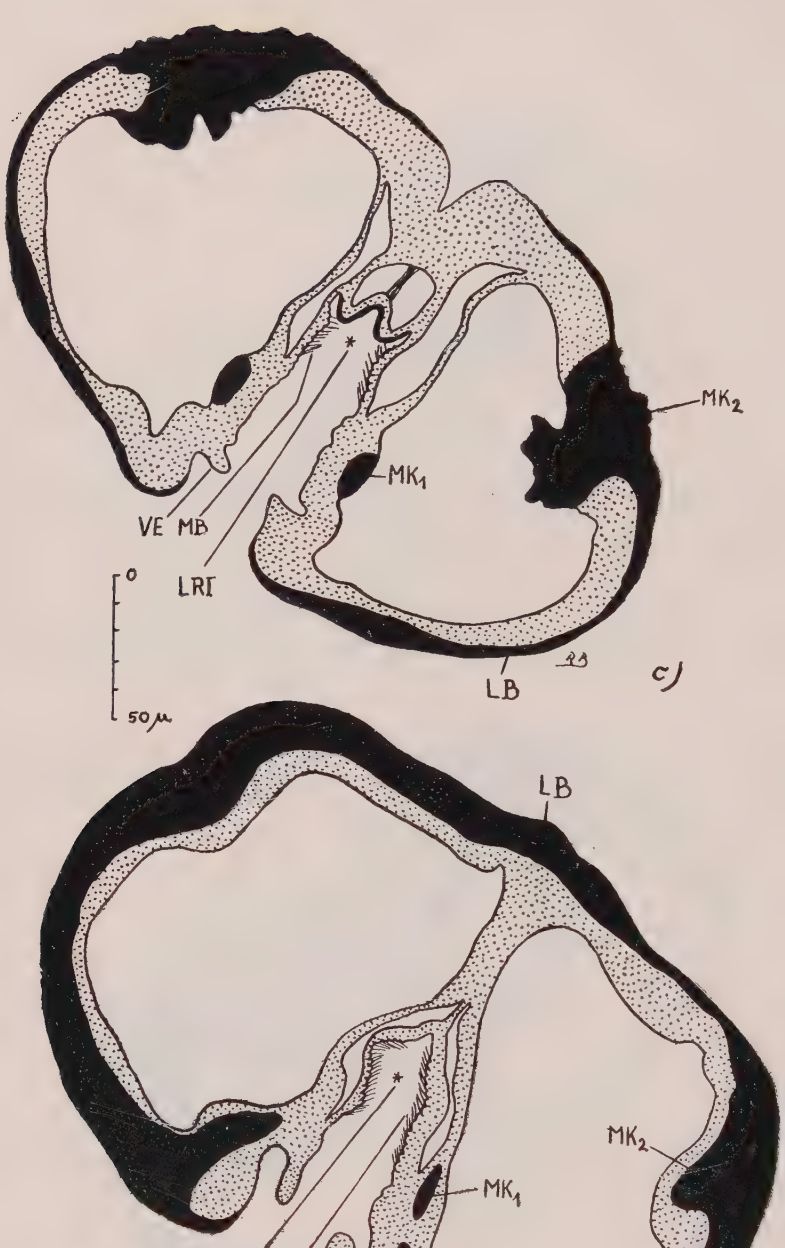


Fig. 11c+d

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

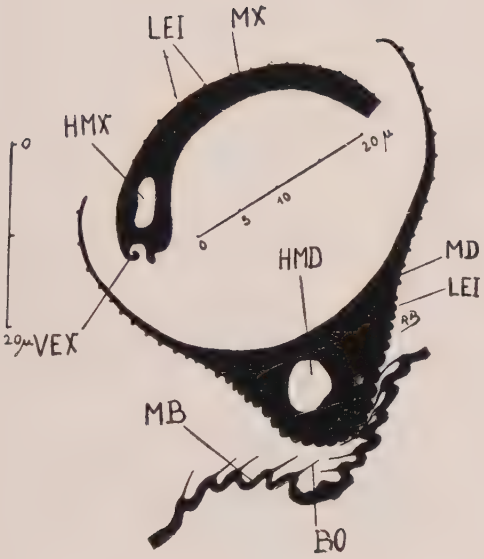


Fig. 12

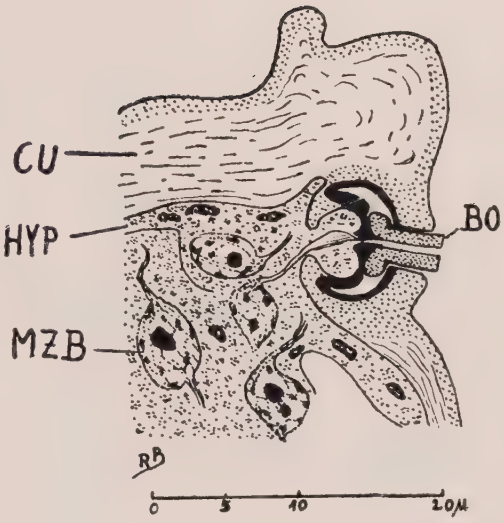


Fig. 13

Fig. 12: Mandíbula direita e uma parte da maxila esquerda com listras longitudinais (LEI) e uma parte do aparelho de limpeza (MB) com cerdas (BO).

Fig. 13: Inserção de uma cerda sensível (táctil) no segmento apical do lábio.

Fig. 12: Rechte Mandibel und ein Teil der linken Maxille mit Laengsriefen (LEI) und ein Teil der Putzeinrichtung (MB) mit Stacheln (BO).

Fig. 13: Ansatz einer Sinnesborste (taktil) am Spitzenglied des Labiums.

Fig. 14: Metade direita da cabeça, antena no pedicelo e nos dois segmentos do flagelo encurtados. Apresentação da posição do órgão de contrôle da mandibula (OXT, OXB, OXA).

Fig. 14: Rechte Haelfte des Kopfes, Antenne im Pedicellus und in beiden Geiselgliedern gekuerzt. Darstellung der Lage des Kontrollorgans der Mandibel (OXT, OXB, OXA).

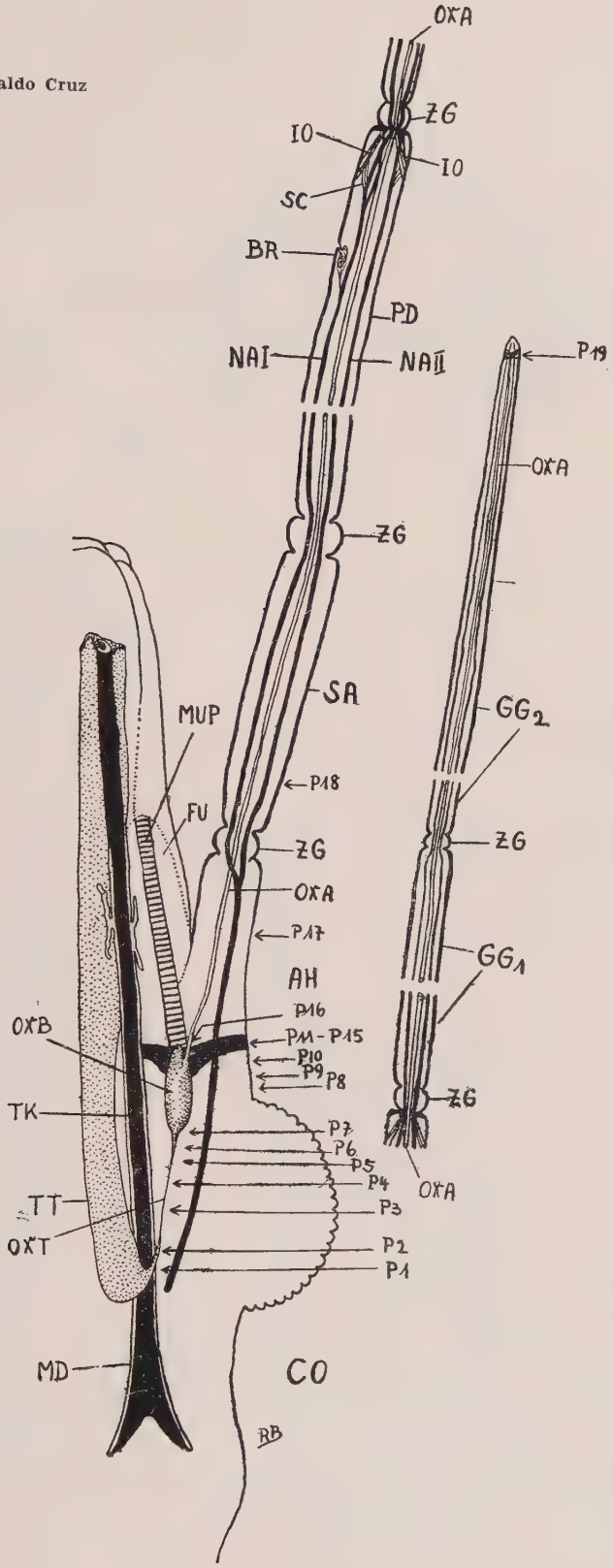

OXA
ZG
IO
IO
SC
BR
PD
NAI
NAII
P19
OXA
ZG
SA
GG2
MUP
FU
P18
ZG
ZG
OXA
P17
GG1
AH
P16
OXB
P14-P15
P10
P9
P8
ZG
TK
P7
P6
P5
P4
OXA
TT
P3
OXT
P2
P1
MD
CO
RB

Fig. 14

Fig. 15: Fim do pedicelo com situação do scolopídio do órgão de contrôle e da sua ligação com cutícula e nervo antenal.

Fig. 15: Ende des Pedicellus mit Lage des Scolopidiums des Kontrollorgans und seiner Verbindung mit Cuticula und Antenennerv.

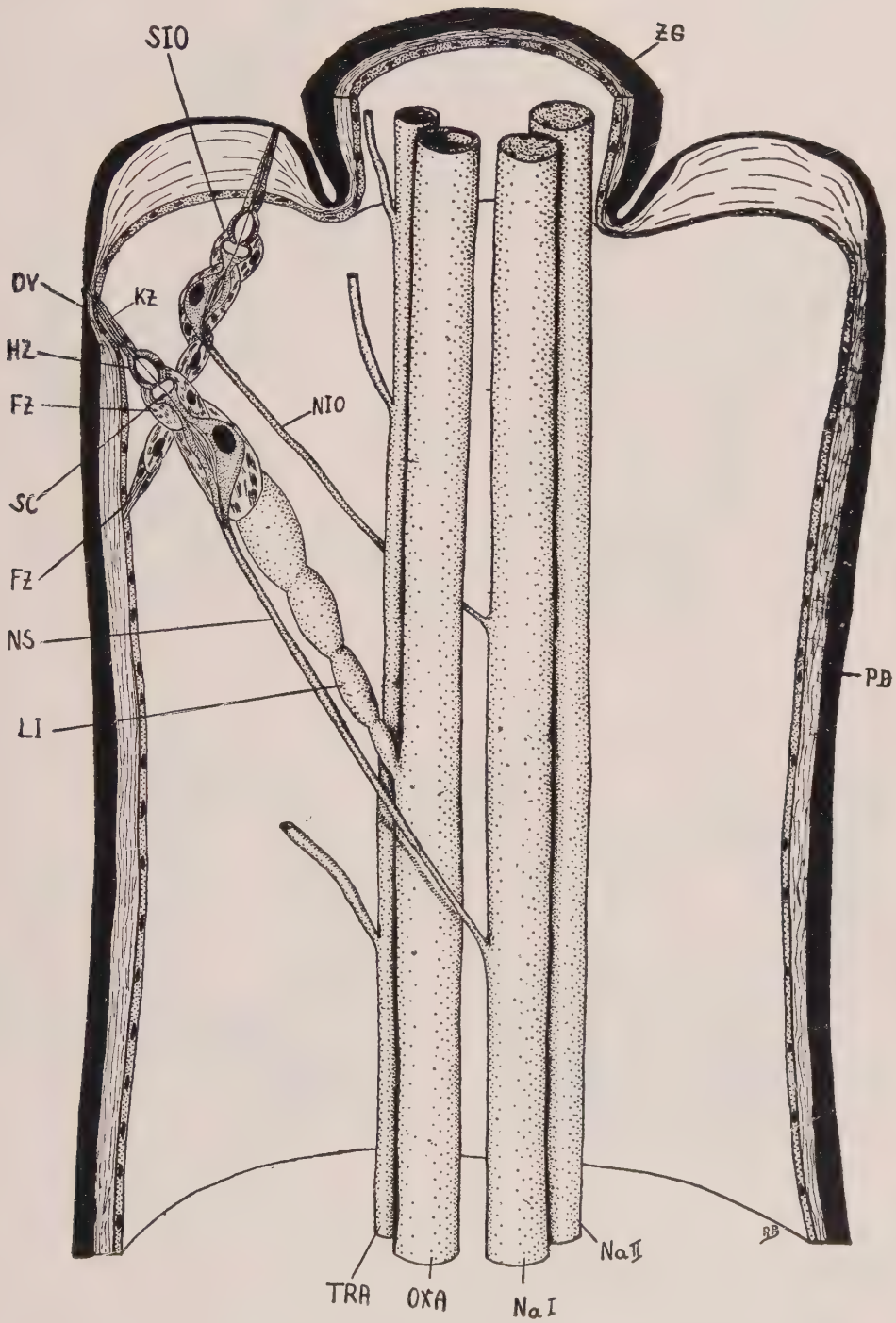


Fig. 15

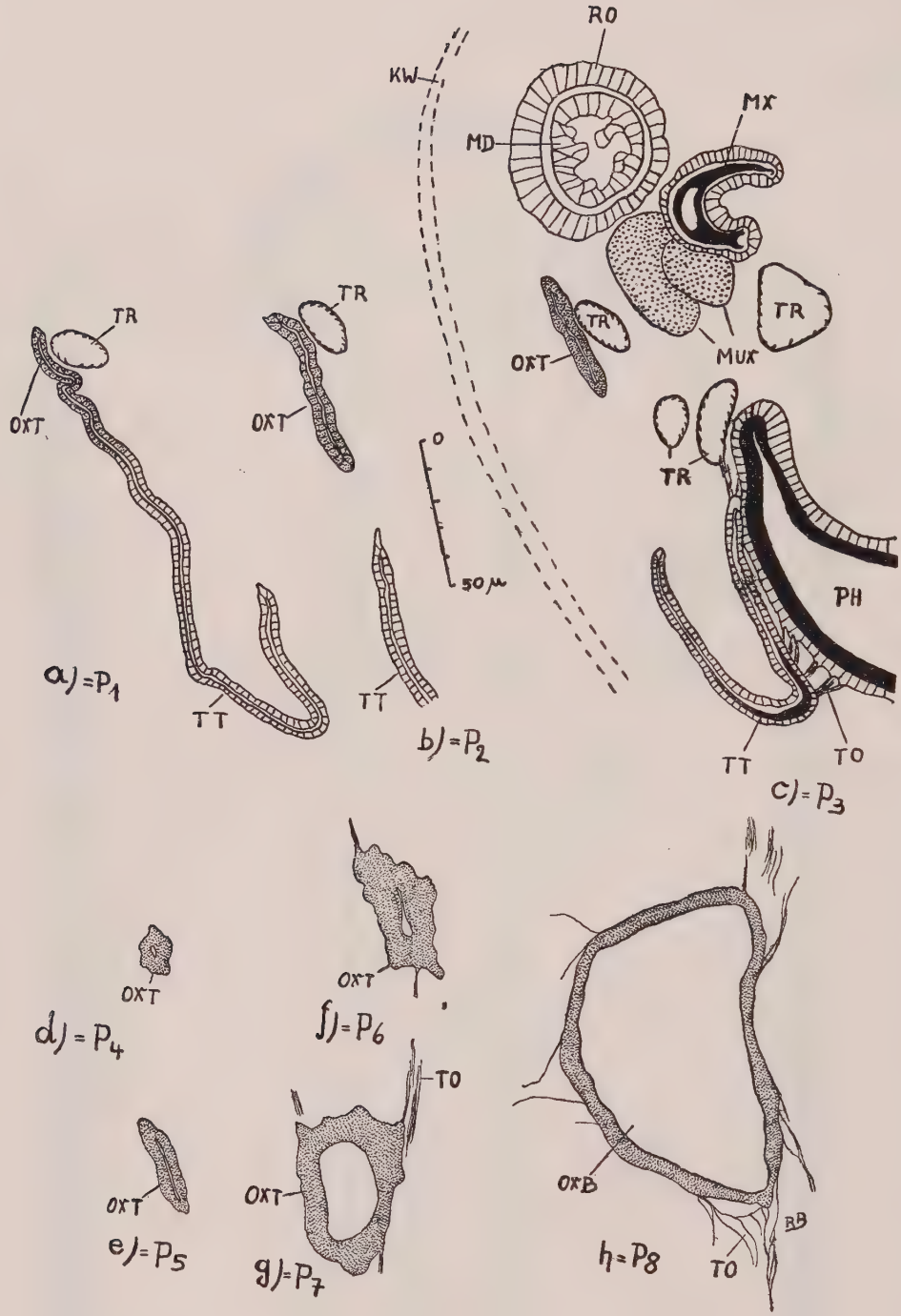


Fig. 16a—h

Fig. 16: Série de cortes transversais pelo órgão de contrôle das mandíbulas. Explicações veja texto.

Fig. 16: Serie von Querschnitten durch das Steuerorgan der Mandibel. Erklaerung siehe Text.

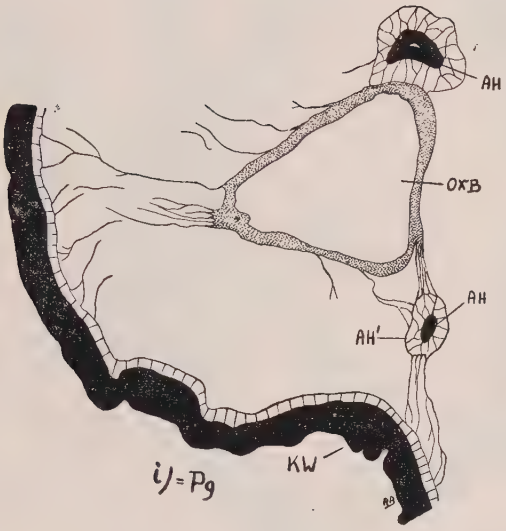


Fig. 16i+k

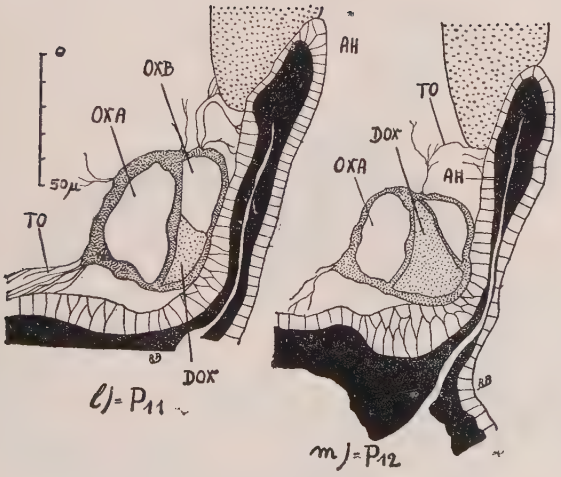


Fig. 16l+m

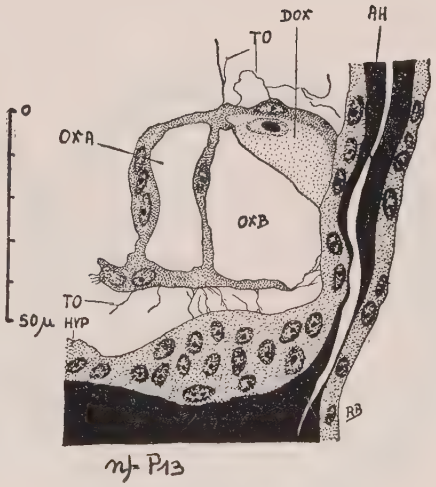


Fig. 16n

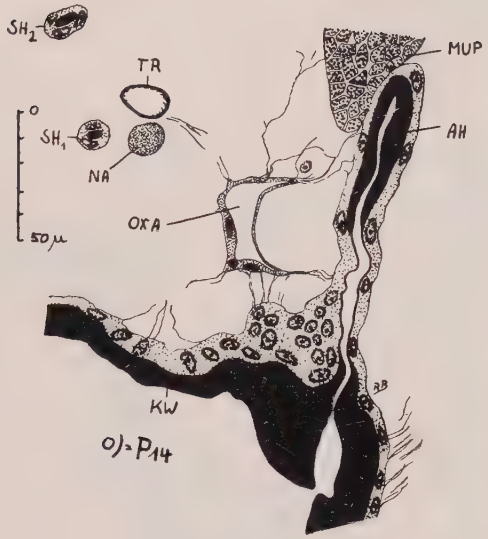


Fig. 16p

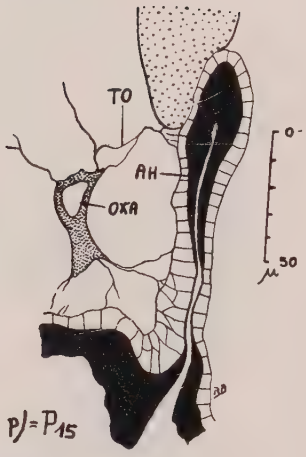


Fig. 16o

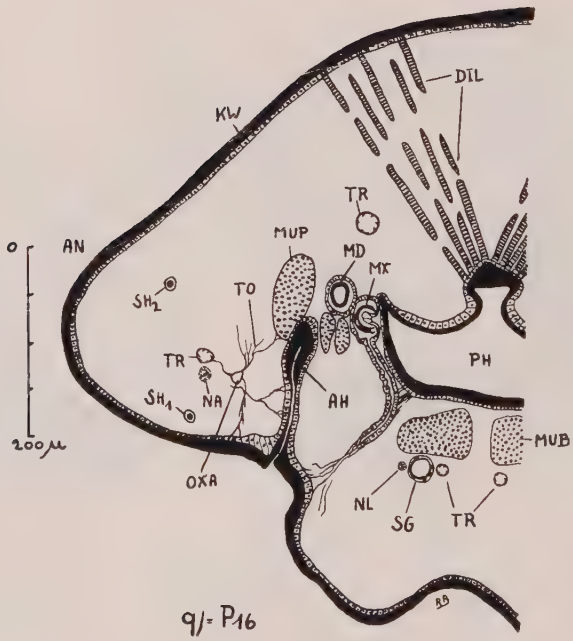


Fig. 16q

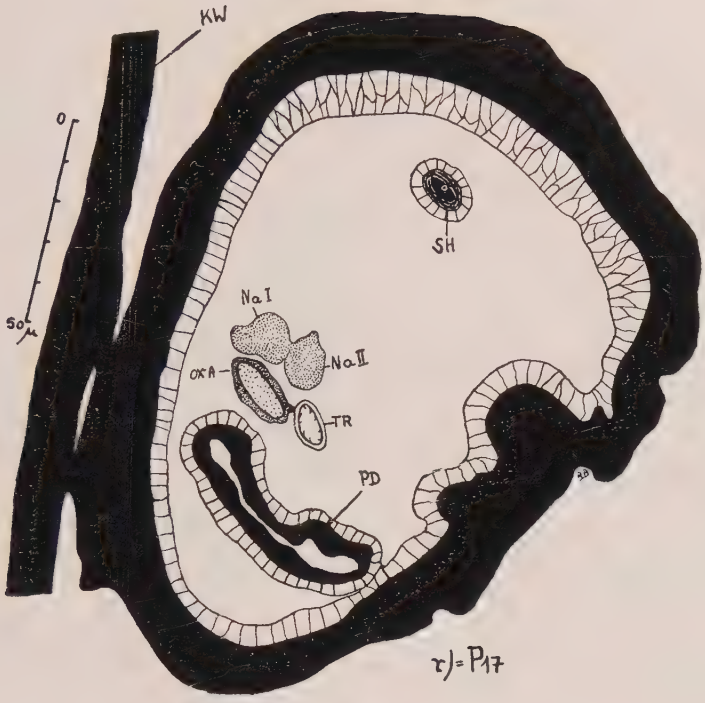


Fig. 16r

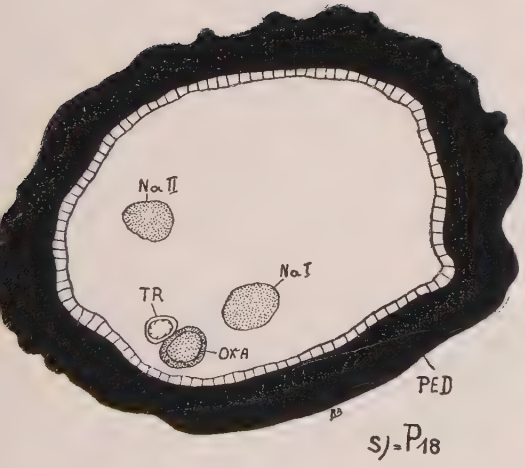


Fig.16s

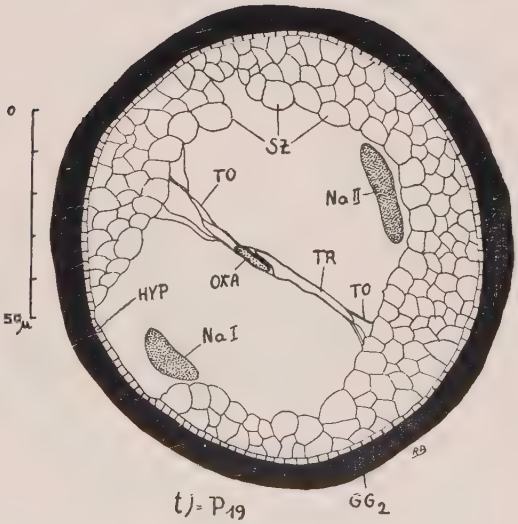


Fig. 16t

Fig. 17: Parte da cutícula do fim do pedicelo com a inserção dos scolopídios do órgão de Johnston, acima uma parte mais aumentada.

Fig. 18: Corte diagonal pela cutícula no fim do pedicelo com a abertura do tubinho do scolopídio (CRM) do órgão de Johnston, acima ao esquerdo cutícula com duas aberturas visto de cima.

Fig. 19: Cortes transversais pelo scolopídio do órgão de contrôle da mandíbula em várias alturas, correspondendo com as setas em fig. 20.

Fig. 17: Ausschnitt aus der Cuticula am Ende des Pedicellus mit der Insertion der Scolopidien des Johnston'schen Organs. Oben ein Ausschnitt staerker vergroessert.

Fig. 18: Diagonalschnitt durch die Cuticula am Ende des Pedicellus mit der Muendung des Roehrchens eines Scolopidiums (CRM) des Johnston'schen Organs. Oben links Aufblick auf die Cuticula mit zwei Muendungen.

Fig. 19: Querschnitte durch das Scolopidium des Kontrollorgans der Mandibeln in verschiedenen Hoehen, entsprechend den Pfeilen in Fig. 20.

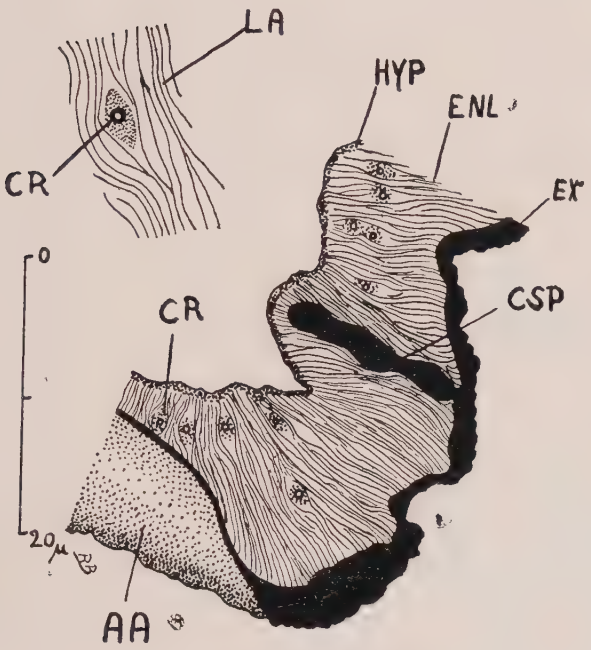


Fig. 17

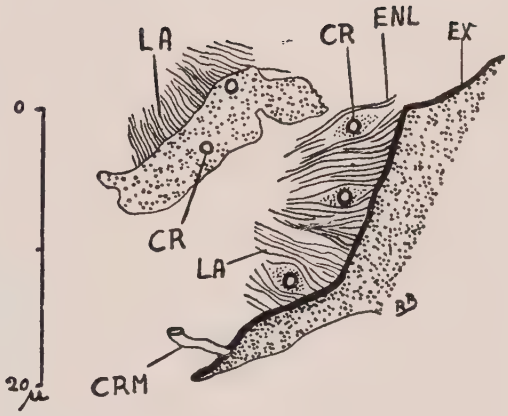


Fig. 18

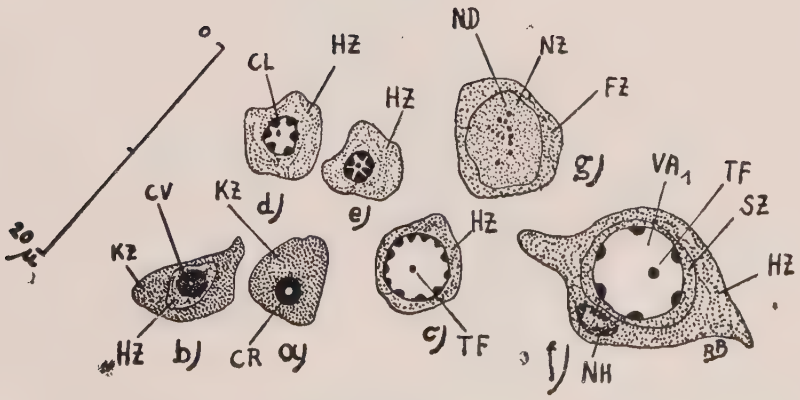


Fig. 19

Fig. 20: Reconstrução do scolopídio do órgão de contrôle da mandíbula.

Fig. 20: Rekonstruktion des Scolopidiums des Kontrollorgans der Mandibeln.

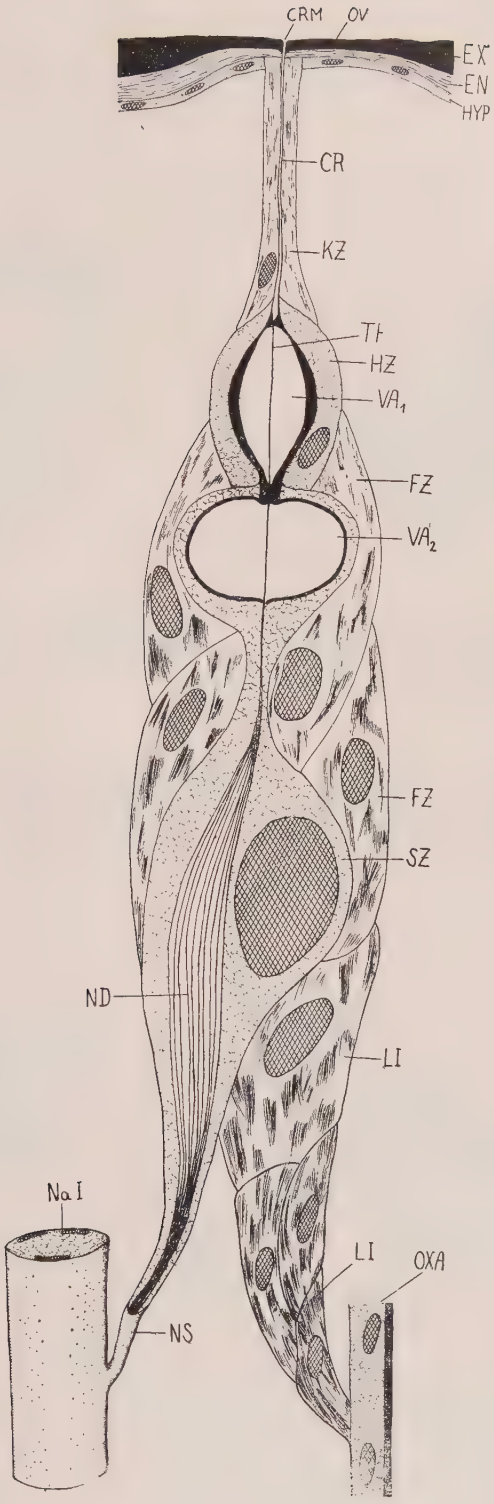


Fig. 20

Fig. 21: Cortes transversais pelo tubo antenal do órgão de contrôle da mandíbula com as células do ligamento (FZ) e a célula sensível (SZ) respectivamente com o ramo centripetal do nervo (ND). a) na altura do núcleo da célula sensitiva, b) no fim da célula sensitiva, c) em baixo da célula sensitiva.

Fig. 21: Querschnitte durch den antennalen Schlauch des Kontrollorgans der Mandibeln mit den Faserzellen des Ligaments (FZ) und der Sinneszelle (SZ) bezw. dem ableitenden Nerv (ND). a) in der Hoene des Kerns der Sinneszelle, b) am Ende der Sinneszelle, c) unterhalb der Sinneszelle.

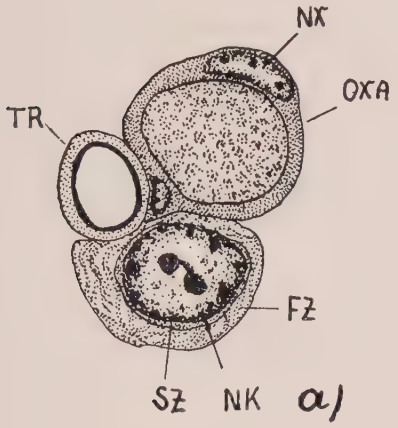


Fig. 21b

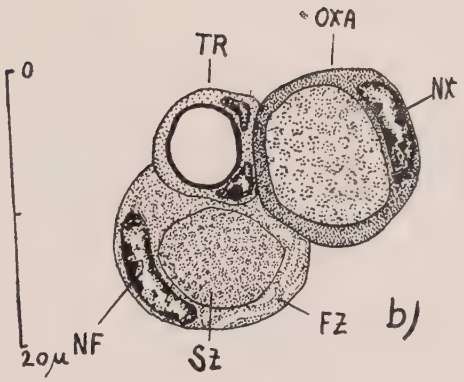


Fig. 21a

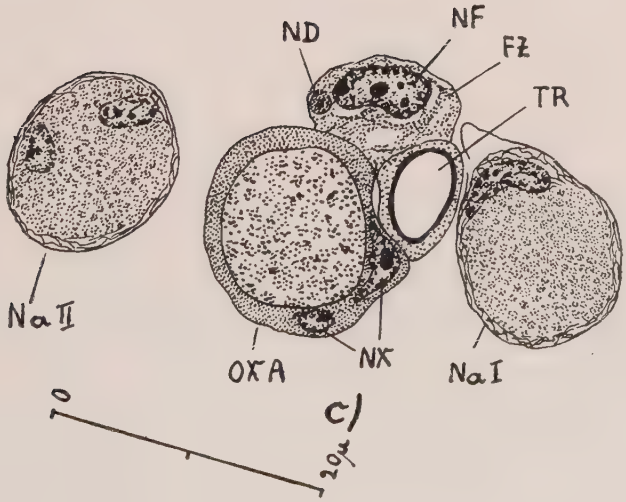


Fig. 21c

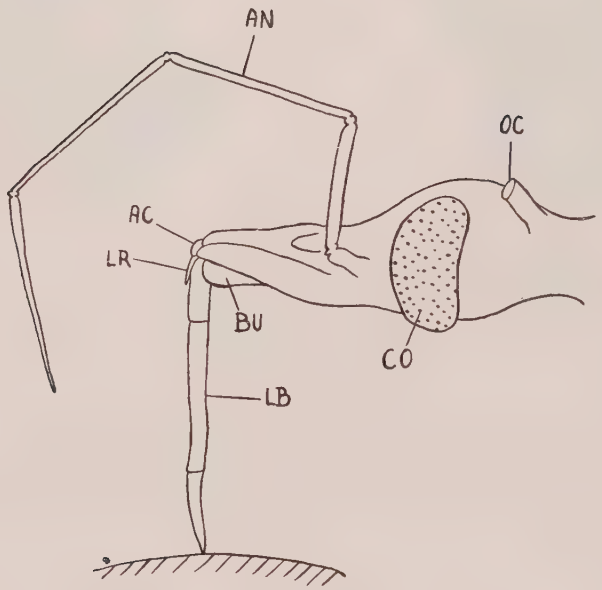


Fig. 22

Fig. 22: Esquema da posição das antenas durante a picada de um *Heteroptera* predator.

Fig. 22: Schema der Stellung der Antennen beim Stich einer raeuberischen Wanze.

Anatomische und histologische Studien ueber die Unterfamilie Triatominae (Heteroptera, Reduviidae).

III. Teil: Untersuchungen ueber den Stechvorgang bei Triatominae.

von

Rudolf Barth

(mit 22 Figuren)

INHALT:

1. Allgemeine Bemerkungen
2. Beobachtungen am lebenden Tier
3. Die Gelenke des Labiums
4. Das Apikalglied des Labiums
5. Das Kontrollorgan der Mandibeln
6. Zusammenfassung
7. Literatur
8. Abkuerzungen in den Figuren

1. Allgemeine Bemerkungen.

In der Arbeit von Barth (1952) wurden die anatomischen Grundlagen dargelegt, um die Taetigkeit der Mundwerkzeuge der *Triatominae* funktionsanatomisch zu analysieren, d. h. um zu versuchen, den Stechvorgang in allen Einzelheiten zu erklaeren. Ueber den Mechanismus des Rhynchotenstiches sind bereits zahlreiche neuere Arbeiten erschienen (Berlese, Stough, Grove, Brittain, Brocher, Minkiewicz, Davidson, Weber, Heargreaves, Awati und Tower), die sich aber zumeits mit den *Homoptera* befassen. Nur Awati, Tower und Weber (1929) gehen des naeheren auf die *Heteroptera* ein, ohne aber das allgemeine Bild so weit abrunden zu koennen, dass der Stechvorgang der *Triatominae* bis ins letzte erklaert werden koennte, da immer noch einige Unklarheiten bestehen bleiben.

Die Problemstellung ergibt sich aus der Wiedergabe der bisherigen Vorstellung des Saugvorganges bei Rhynchota allgemein. Ohne auf die

Besprechung der oben zitierten Literatur im einzelnen einzugehen, ist der Vorgang des Stechens bei den *Heteroptera* zusammenfassend wie folgt darzustellen:

Durch alternierende Kontraktionen der Protraktoren werden die Mandibeln stueckweise in die Haut des Wirtes vorgestossen. Nach jeder Einzelbewegung oder nach einigen Bewegungen der Mandibeln folgen die Maxillen als geschlossenes Buendel. Dieses Vordringen erfolgt solange, bis die Kontraktionsfaehigkeit der Protraktoren der Mandibeln erschoepft ist, wenn nicht vorher die Nahrungsquelle erschlossen ist, in die die Maxillen zum Saugen eindringen. Handelt es sich um *Heteroptera,* bei denen durch Einknicken des Labiums das Stechborstenbuendel aus der Labialrinne heraustreten kann, so kann sich der Kopf ein betraechtliches Stueck der Haut des Wirtes naehern. Jetzt koenen die Protraktoren wieder gedehnt werden und neuerdings vermag das Buendel weiter vorzudringen. Bei anderen Formen vermag dieser Effekt nur insofern zur Auswirkng kommen, als sich die Gelenkmembranen ineinander schieben lassen und so das Labium verkuerzt wird, wodurch den Stechborsten eine weitere Moeglichkeit zum Vordringen gegeben wird. Unbeantwortet bleibt die Frage nach einem entsprechenden Effekt bei denjenigen *Heteroptera,* bei denen das Labium weder geknickt noch ineinander geschoben werden kann. Zu dieser dritten Gruppe sind die *Triatominae* zu zaehlen (s. unten).

Bei den *Psyllidae* (*Homoptera*) und anderen Familie der *Homoptera* wird eine grosse Stichtiefe durch eine Klemmvorrichtung im Labium erreicht: Die Stechborsten werden durch ein Paar chitinoeser Klammern ("fingerfoermige Fortsaetze" nach Weber, 1930, "mamelons crochus" nach Brocher, 1925) in der Labialrinne festgeklemmt, wenn der Protraktor der Mandibeln sich extrem kontrahiert hat. Durch Kontraktion der Retraktoren werden die Protraktoren wieder gespannt und nach Loesen der Klemmvorrichtung koennen die Stechborsten weiter vorgetrieben werden. Auf diese Weise kann z. B. *Psylla mali* (Weber 1929) seine langen Stechborsten, die in der Ruhelage unter dem Kopf eine Schleife bilden, voellig ausstrecken und tief in das Pflanzengewebe einfuehren. Nachweislich kann der Protraktor bei den *Triatominae* die Mandibeln nicht so weit vorwaertsbewegen, um eine genuegend ergiebige Nahrungsquelle zu erschliessen (s. unten). Es ergibt sich die Notwendigkeit, durch erneutes Dehnen der Protraktoren eine groessere Stichtiefe zu erreichen. Eine solche Einrichtung ist fuer *Heteroptera* noch unbekannt und wird weiter unten mitgeteilt.

Eine ebenfalls schwierige Frage ist die der Regulierung der Stichrichtung und der Stichtiefe, die auch schon von Weber zusammenfassen behandelt wird. Die Stechborsten bestehen nur aus Chitin und besitzen in ihrer ganzen Laenge keine Sinnesorgane. Eine chemische Kontrolle der eingesogenen Nahrung erfolgt im Epipharynx. Auf Grund der hierdurch empfangenen Reize kann durch das Zentralnervensystem eine Beeinflussung der Stechborsten erfolgen. Zur Erschliessung der Nahrungsquelle ist aber auch die Wahrnehmung taktiler Reize notwendig. Weber vermutet die entsprechenden Sinnesorgane in den "retor-

tenfoermigen Organen" (in den trichterfoermig erweiterten Basen) der Stechborsten tief im Kopf. Eine naehere Beschreibung solcher Rezeptionsorgane ist bisher noch nicht erfolgt. Es konnten bei Nachpruefung dieser Stellen lediglich einige freie Nervenendigungen festgestellt werden, die sich in nichts von der Innervierung aller anderen Organe der Kopfkapsel unterscheiden.

Durch die Analyse der Stechbewegungen und des Saugvorganges kann dergelegt werden, dass die Mandibeln in der Hauptsache mechanischen Reizen beim Eindringen in das Wirtsgewebe folgen muessen. Ist etwa durch einen Wechsel der Dichtigkeit des Wirtsgewebes fuer die Mandibeln der Druckreiz vermindert worden, liegt fuer das Tier die Moeglichkeit nahe, dass eine Ader angebohrt worden ist. Erst jetzt treten die Maxillen in diese Stelle geringeren Druckes ein und die Pharynxpumpe beginnt ihre Arbeit. Der aufsteigende Nahrungsstrom wird im Epipharynx auf seine Zusammensetzung chemisch kontrolliert und hier erst wird entschieden, ob diese Stelle zur Saettigung des Tieres genuegt. Es ergibt sich also, dass die Mandibeln ausschliesslich auf mechanische Reize reagieren, die Maxillen dagegen nur mittelbar durch Leitung des Nahrungsstromes zum Epipharynx an der Reizwahrnehmung beteiligt sind.

Das Rezeptionsorgan fuer chemische Reize liegt damit fest, das fuer mechanische Reize steht noch aus und wird weiter unten beschrieben.

Aus der kritischen Betrachtung der vorhandenen, schon oben zitierten Literatur ergeben sich folgende Fragen fuer die Darstellung des Stechvorganges bei den *Triatominae* (ob fuer weitere Gruppen der *Heteroptera,* kann heute noch nicht gesagt werden, da diesbezuegliche Untersuchungen noch ausstehen):

1. Wie tief dringen die Mandibeln in das Wirtsgewebe ein?
2. Kann das Labium der *Triatominae* verkuerzt werden?
3. Besitzen die *Triatominae* eine Klemmvorrichtung im Labium?
4. Besitzen die *Triatominae* eine Moeglichkeit, das Vordringen der Mandibeln im Wirtsgewebe zu kontrollieren?

2. *Beobachtungen am lebenden Tier.*

Um die Eindringtiefe der Mandibeln in das Wirtsgewebe festzustellen, ergab sich naturgemaess die Notwendigkeit der Beobachtung der Stechborsten am lebenden wie am gerade getoeteten Tier.

Wie schon Awati (1914) fuer *Lygus* und Weber (1930) fuer *Heteroptera* allgemein feststellten, wird das Stechborstenbuendel in der Labialrinne schon durch das Aufrichten des Labiums aus der Ruhestellung in die Stechstellung nach vorne bewegt. Dieser Effekt kommt dadurch zustande, dass die Insertion des Labiums etwas auf die Unterseite des Kopfes gerueckt ist, die Stechborsten aber, von den Laengsleisten des Anteclypeus und des Labrums gehalten, annaehernd an der Spitze des Kopfes die Mundhoehle verlassen. Dieser Vorgang ist nach Webers Schema in der Fig. 1 wiedergegeben. Hierdurch wird,

wie Weber schon bemerkt, das Stechborstenbuendel unmittelbar vor dem Stich soweit nach vorne geschoben, dass die Kontraktion der Protraktoren sogleich zur vollen Wirkung kommt. Bei ausgestrecktem Labium tritt die Spitze des Buendels am lebenden Tier etwas aus der Muendung der Labialrinne heraus. Beim Beginn des Stechvorganges wird der Koerper mit betraechtlichem Kraftaufwand nach vorne gestossen und damit das Labium wie ein Dolch auf die Haut des Opfers gedrueckt. Dieser Druck ist so stark, dass unter dem Binokular beobachtet werden kann, wie die Haut (besonders deutlich an der glattrasierten Bauchhaut des Meerschweinchens) eingedrueckt wird. Es wurde an einer grossen Anzahl von Wanzen das Vortreten des Stechborstenbuendels aus der Labiumspitze gemessen. Die Tiere wurden leicht mit Chloroform narkotisiert, auf Kork mit Nadeln in der Seitenlage befestigt und durch das Binokular mit geeichtem Okularmikrometer beobachtet. Wenn auch durch das Narkoticum sich die Protraktoren in unterschiedlichem Kontraktionszustand befanden, so ergibt sich aus der folgenden Zusammenstellung einiger Beispiele von *Triatoma infestans* ein Bild von dem mechanisch bedingten Vortreten der Mandibeln beim Aufrichten des Labiums (die Maxillen wurden hierbei nicht beachtet):

OBJEKT	LAENGE DES SICHTBAREN TEILS DER MANDIBELN IN MICRA			Laenge des Labiums in mm
	Labium in Ruhestellung (A in Fig. 1)	Labium in senkrechter Stellung (B in Fig. 1)	Labium in aufgerichteter Stellung (C in Fig. 1)	
Larve III	nicht sichtbar	nicht sichsbar	108	2,3
Larve IV	idem	90	233	3,1
Nymphe	idem	83	414	4,5
Imago, Wibchen	idem	120	364	5,8
Imago, Maennchen	385	408	703	5,1

Im letzten Fall der Zusammenstellung ist vermutlich die Wirkng des Chloroforms zu stark gewesen, so dass eine staerkere irreversibele Kontraktur des Protraktors eingetreten war. Es laesst sich aus diesen Faellen (andere Messungen bewegen sich in aehnlichen Grenzen) schliessen, dass die Mandibeln beim Ausstrecken des Labiums der Imago ohne Kontraktion der Protraktoren 250 — 300 micra weit vortreten. Da die Mandibeln der *Triatominae* sehr stark und wenig biegsam sind, kann geschlossen werden, dass durch den Vorstoss des Koerpers beim Beginn des Stiches die Spitze der Stilette bereits gegen die Haut gestossen werden. Biologisch bringt dieser Effekt den Vorteil mit sich, dass das Haarkleid des urspruenglichen natuerlichen Wirtes ohne Muskelarbeit von den Mandibeln durchdrungen werden kann. Ob es hierbei schon zum Eindringen in die Haut selbst kommt, war nicht zu

beobachten. Werden die Mandibeln hierbei etwas durch den Druck in den Kopf zurueckgedraengt, so spannen sie den Articulationshebel und den Protraktor, so dass bei Kontraktion des letzteren sogleich eine effektive Arbeit geleistet wird.

Die Laenge des beim Stich in das Wirtsgewebe eintretenden Teiles der Mandibeln haengt in erster Linie direkt mit der Laenge des Protraktors zusammen. Um die Laenge des *musculus protractor mandibulae* exakt festzulegen, wurde eine Querschnittsserie durch den Kopf einer Imago von *Triatoma infestans* verwendet (215 k, 15 micra), deren Stechborsten nach der Fixierung nicht aus dem Labium heraustraten, so dass der Artikulationshebel in seiner aeussersten hinteren Lage sich befand und der Protraktor gestreckt war. Es wurde durch Auszaehlung der Schnitte vom Beginn bis zum Ende des Muskels eine Laenge von 48 . 15 = 720 micra festgestellt. Die gemessene Schrumpfund betraegt 25%, so dass die wahre Muskellaenge 900 micra ist. Zur Kontrolle wurde auf die gleiche Weise die Entfernung zwischen den beiden Insertionen (im Fulcrum und am Articulationshebel) gemessen, es ergab sich hierfuer die gleiche Laenge (60 Schnitte von 15 micra = 900 micra). Aus den Untersuchungen an Raupenmuskeln (Barth 1937) ist eine maximale Verkuerzung des normalen Insektenmuskels von etwa 35% zu entnehmen. Im vorliegenden Falle verkuerzt sich hiernach der Protraktor um 315 micra. Die Laenge des Artikulationshebels betraegt 423 micra, der Muskel setzt mit seinen mittleren Fasern 262 micra von der Kopfwand entfernt am Hebel an. Es ergibt sich das in Fig. 2 dargestellte Schema: Hierin sind die Seiten a, b und c bekannt. Daraus folgt die Gleichung:

$$a : x = b : (b + c)$$

oder

$$315 : x = 362 : 423$$

woraus

$$x = 508{,}6$$

hervorgeht. Zwar legen B nach B' und C nach C' keine Geraden, sondern Kreisboegen zurueck, da aber der Artikulationshebel in C nicht mit der Mandibel, sondern mit dem tentorialen Kanal der Mandibel verwachsen ist, resultiert fuer die Mandibel eine geradlinige Bewegung, da der weichhaeutige Kanal durch Faltenbildung nachgibt und die Mandibel durch die Fuehrungsleisten des Tentoriums in ihrer Lage fixiert ist. Es ist bei maximaler Kontraktion des Protraktors der Mandibeln mit einer Vowaertsbewegung von hoechstens 500 micra bei der Imago zu rechnen.

Im weiteren wurden Beobachtungsreihen der Bewegungsvorgaenge der Stechborsten angestellt: Es wurden zunaechst Larven und Imagines beim Stechvorgang beobachtet. Hierzu wurden Tiere in Glasroehrchen gebracht, die einerseits mit einem Kork, andererseits mit grobmaschiger Gaze verschlossen waren und einen Streifen Filtrierpapier enthielten (Fig. 3). Das Ende mit der Gaze wurde an die rasierte Bauchhaut eines Meerschweinchens oder einer Maus gehalten und unter dem Binokular beobachtet. Der Stechvorgang verlief bei allen Beobachtun-

gen annaehernd in der gleichen Form. Als Beispiel wird folgendes Protokoll gegeben:

"Reaktion beginnt nach wenigen Sekunden mit Bewegungen der Antennen und Aufrichten des Koerpers aus der Ruhelage — Tier macht einige Schritte in Richtung auf die Gaze, dabei wird das Labium schnell und extrem vorgestreckt — Stechborsten sind nicht zu sehen — auffallende Bewegung der Antennen: "Orientierungsbewegungen" (d. h. die Antennen werden abwechselnd nach vorne und hinten gestellt) — Tier laeuft nach einigen Sekunden weiter auf die Gaze zu — stockt kurz davor — (weitere Beobachtungen unter dem Binokular) — Tier tastet mit Labium, nicht mit Antennen (letztere nach oben gestellt) — fuehrt Labium durch die Gaze bis kurz vor die Haut des Meerschweinchens — Suchbewegungen des Labiums: das Apikalglied wird haeufig stark zur Seite, nie nach oben oder unten gebogen — Koerper stoesst heftig horizontal vor, Labium drueckt auf die Haut, bildet dort eine Vertiefung — es folgt Saugen — nach 8 Minuten Abdomen stark aufgetrieben — Fezes — Tier zieht sich ins Dunkel am Ende des Roehrchens zurueck."

In einer anderen Beobachtungsreihe wurde versucht, die Bewegungen der Stechborsten selbst zu beobachten. Hierzu wurden die Tiere (nur Imagines) Chloformdaempfen ausgesetzt, bis die Bewegungen gerade aufhoerten. Die so behandelten Tiere wurden in der Seitenlage auf einem Stueck Kork mit Nadeln festgehalten und unter dem Binokular beobachtet. Das Labium wurde mit einer Nadel in seiner Angriffsstellung festgelegt. Durch die Einwirkung des Narkotikums werden vermutlich die Bewegungen in ihrer Reihenfolge gestoert sein. Trotzdem ergeben diese Beobachtungen wichtige Hinweise auf die Moeglichkeiten der Bewegungen der Stechboraten. Beobachtete Bewegungen der Spitzen: Die Mandibeln werden alternierend vorwaerts bewegt, nach 4 — 6 Vorstoessen erfolgt ein Rueckzug bis zur Muendung der Labialrinne. Darauf erneutes alternierendes Vordringen. Maxillen sind nicht sichtbar.

Die Mandibeln stehen still, die Maxillen werden weit als geschlossenes Buendel schnell mehrmals vorgestreckt und zurueckgezogen. Die weiteren Beobachtungen eines Falles gibt folgendes Protokoll wieder:

Maxillen zwischen den stillstehenden Mandibeln vorgestreckt (etwa 1 mm) — rechte Maxille mit Endfaden wird einzeln ein kleines Stueck zurueckgezogen (die maxillaeren Gaenge sind damit geoeffnet) — linke Maxille steht still — die Bewegung ist ruckartig unter Bewegung der Spitze der Maxillen in der Frontalebene nach rechts — anschliessend langsames Vorgleiten der rechten Maxille in die Ausgangslage (die maxillaren Gaenge sind damit geschlossen), dabei legt sich der Endfaden vor die Spitze der linken Maxille und biegt fast rechtwinklig auf die linke Seite um — Bewegung wird laufend wiederholt — bei jedem Zurueckschnellen tritt aus der Spitze der linken Maxille ein kleiner, klarer Fluessigkeitstropfen aus (Speichelsekret)."

Gewaltsam vorgezogene Mandibeln gehen langsam in ihre Ausgangslage zurueck; ebenso behandelte Maxillengehen dagegen nicht zurueck.

Um die Bewegungsmoeglichkeiten weiterhin zu beobachten, wurde folgende Beobachtung angestellt:

"*Triatoma megista,* Maennchen, Imago. Leicht narkotisiert — Medial — und Apikalglied des Labiums abgetrennt, Stechborsten als ganzes erhalten, horizontal gelagert, Labiumrest vorgestreckt — nach 3 Minuten beginnen Bewegungen der Antennen, nach 5 Minuten der Stechborsten: Nur der Spitzenteil wird in der Frontalebene bewegt. Der Winkel betraegt insgesamt 5°-8°. Bewegung in der Sagitalebene ebenfalls wahrnehmbar, aber gering 2°-3°. Spitze beschreibt eine Elipse mit den Durchmessern (ueber tg α zu berechnen) von 112 micra und 40 micra. Alternierende Bewegungen der Mandibeln beobachtet, die der Maxillen nicht.

Bei gewaltsam getrennten Stechborsten bilden die Maxillen jede fuer sich einen nach innen gerichteten Bogen (sehr flach), damit zeigen sie an, dass die einzelne Maxille eine Spannung im Chitin besitzt, die den Zusammenhalt beguenstigt und fuer das Zusammenschliessen zur Bildung der Kanaele beim Passieren des Hypopharynx notwendig ist. Die Mandibeln bleiben gerade oder sind nur unmerklich nach innen gebogen."

Eine unregelmaessige oder gewundene Verbiegung der Stechborsten wie bei Pflanzenlaeusen, wie es von verschiedenen der genannten Autoren beschrieben wird, war hier nicht festzustellen. Ein Vergleich dieser Beobachtungen mit den Befunden in der anatomischen Arbeit (Barth, 1952) ergibt folgende Rueckschluesse auf die Funktion der Stechborsten:

Die Mandibeln und Maxillen stehen auch in der Ruhe staendig unter einem gewissen Druck, hervorgerufen durch den normalen Muskeltonus der Protraktoren oder durch die elastischen Chitinteile des Artikulationshebels (in diesem Falle nur fuer die Mandibeln geltend): hierdurch befinden sich die Spitzen der Stechborsten immer unmittelbar an der Muendung der Labialrinne und sind stets in Aktionsbereitschaft. Die Stechbewegung der Mandibeln erfolgt durch Uebertragung der Kraft des Protraktors vermittels des Artikulationshebels auf den tentorialen Fuehrungskanal der Mandibel, der am Ende der Mandibel in diese ueberght. Der relativ hohe Druck beim Einstich, der bei einer direkten Insertion des Protraktors an der Mandibel selbst von den Tonofibrillen des Insertionspunktes ueberwunden werden muesste,, wird durch Einschaltung des Artikulationshebels auf drei Insertionen verteilt (Insertion des Protraktors am Hebel, Insertion des Hebels an der Wand des tentorialen Kanals, Insertion des hypodermalen Fibrillenbuendels am Ende der Mandibel). Durch die Einschaltung des Artikulationshebels wird der Effekt der maximalen Kontraktion des Protraktors von 315 micra auf 500 micra vergroessert. Die Protraktoren der Maxillen und Mandibeln koennen alle gleichzeitig sowie einzeln kontrahiert werden. Die Oeffnungen der beiden Kanaele (Nahrungs — und Speichelkanal) zwischen den Maxillen sind beim Vordringen in das Wirtsgewebe solange geschlossen, bis die Saugbe-

wegungen eintreten. Der Verschluss erfolgt durch die schmale, fadenfoermige Spitze der rechten Maxille. Durch eine geringe Rueckwaertsbewegung werden die Oeffnungen frei gegeben. Dass dieser Verschluss sehr dicht ist, geht aus der Beobachtung hervor, dass nur bei zurueckgezogener Maxille der Speichel austritt.

Das Stechborstenbuendel ist zu einer geringfuegigen Richtungsaenderung seiner Spitze befaehigt, entsprechend den Befunden Webers (1930) an *Homoptera* wahrscheinlich durch alternierende Kontraktionen der Protraktoren von Mandibeln und Maxillen. Danach wuerde eine Kontraktion der linken Protraktoren eine Biegung nach rechts verursachen. Diese Moeglichkeit zur Richtungsaenderung ist nur von geringem Effekt: Waehrend das geschlossene Stechborstenbuendel an der Spitze einen Kreisbogen von nur etwa 40 micra beruehren kann (s. oben), koennen die voellig ausgestreckten Maxillen (s. unten) einen Kreisbogen von nicht mehr als 120 micra insgesamt beschreiben. Dieser Berechnung, die nur Annaeherungswerte wiedergibt, entspricht die Beobachtung, dass das saugende Tier oft mehrmals an verschiedenen Stellen die Haut des Wirtes ansticht.

Um die Eindringtiefe der Maxillen zu kontrollieren, wurde eine Beobachtungsreihe angestellt, von der folgender Auszug wiedergegeben wird:

"Lebendbeobachtung, *Triatoma infestans*, Weibchen, in Glasroehrchen mit Gazeverschluss. Saugt nach der dritten Minute an Meerschweinchen — nach 2 Minuten sichtbare Fuellung des Abdomens — Unterbrechung: Glas etwas vom Meerschweinchen abgerueckt, so dass zwischen Labiumspitze und Haut des Meerschweinchens ein Zwischenraum von 0,5 mm besteht (Beobachtung unter dem Binokular mit Okularmikrometer) — anschliessend macht das Tier Suchbewegungen mit Apikalglied nach den Seiten — nach 1 Minute bleibt Labium gerade gestreckt und die Stechborsten treten ruckweise hervor und ueberbruecken den Abstand — Tier saugt weiter 1 Minute lang — Abdomen fuellt sich weiter — Unterbrechung: Glas um 0,5 mm weiter abgerueckt —: dasselbe Ergebnis: die Stechborsten erreichen wiederum die Haut, Abdomen fuellt sich weiter — Unterbrechung: Glas um weitere 0,5 mm abgerueckt —: Mandibeln erreichen nicht mehr ganz die Haut, wohl die Maxillen, letztere dringen aber nicht ein — Suchbewegungen sehr heftig mit ganzem Labium, Tier wird unruhig — Unterbrechung: Abstand von 1,5 mm auf 1,0 mm reduziert —: Weiteres Saugen, nach 5,5 Minuten beendet das Tier das Saugen freiwillig, Abdomen sehr stark aufgetrieben — bleibt 6 Minuten ruhig sitzen — Fezes — weitere Fezes nach 10 und 12 Minuten — zieht sich ins Dunkel zurueck".

Aus dieser einfachen Versuchsreihe, zu der nur sehr stark ausgehungerte Tiere benutzt werden koennen, ergibt sich, dass die Mandibeln mehr als 1,0 mm, aber weniger als 1,5 mm weit aus dem Labium hervortreten koennen. Die Maxillen dagegen ueberschreiten die 1,5 mm — Grenze um ein weniges.

Um die Grenzen der Bewegungsmoeglichkeit der Maxillen feststellen zu koennen, wurde die Laenge des Protraktors in derselben Querschnittsserie gemessen, die zur Feststellung der Laenge des Protraktors der Mandibeln diente. Es ergab sich unter Beruecksichtigung der 25 %igen Schrumpfung eine Muskellaenge von 3,769 mm. Daraus ist die maximale 35 %ige Kontraktion mit 1,319 mm zu berechnen. Diese Laenge entspricht etwa den Ergebnissen der obigen Beobachtungen, so dass Funktion und anatomischer Befund in Uebereinstimmung gebracht werden koennen. Anders verhaelt es sich mit der Mandibel, die nach dem anatomischen Befund nur 0,5 mm weit aus dem Labium heraustreten kann, dem eine beobachtete Laenge von 1,2 — 1,3 mm gegenuebersteht.

Dieses Problem kann andererseits auch von der empirisch-bionomischen Seite betrachtet werden. Die *Triatominae* saugen am Menschen vorzugsweise nachts an unbedeckten Koerperstellen wie Gesicht, Hals und Haenden. Im Schnitt durch die menschliche Haut zeigt es sich, dass die ersten Blutkapillaren im untersten Teil der Epidermis, im *stratum germinativum,* und in den Papillen des oberen Coriums, gefunden werden, d. h. in der Gesichtshaut in einer Tiefe von etwa 70 — 100 micra. Diese Kapillaren sind jedoch von solch geringem Durchmesser (10 — 25 micra), so dass eine Saettigung eines 4,0 — 5,0 cm grossen Tieres sehr schwierig sein duerfte, da der Durchmesser der Maxillen bereits groesser ist als der des Gefaesses. Aufsaugen eines Blutergusses im Umfang eines verletzten Gefaesses duerfte kaum eine wesentliche Beschleunigung der Saettigung herbeifuehren. Darueber hinaus ist (nach muendlicher Miteilung von Dr. Julio Muniz, Instituto Oswaldo Cruz) die haemoragische Wirkung des Speichels aller *Triatominae* sehr gering. Biologisch gesehen ist diese Tatsache von Bedeutung, um Abwehrbewegungen des zumeist schlafenden Opfers zu vermeiden. Groessere Blutgefaesse finden sich erst im *stratum capillare*, etwa in der Mitte des Coriums, in einer Tiefe von 1 000 bis 1 500 micra je nach Dicke der darueberliegenden Epidermis. Zusammenfassend ergibt sich hieraus, dass die Mandibeln wenigstens um die doppelte Laenge des Kontraktionseffektes der Protraktoren aus dem Labium vorstossen muessen, um den Maxillen den Weg zur Nahrungsquelle zu erschliessen. Zur Loesung dieser Frage muss eine Untersuchung der Gelenke des Labiums erfolgen, um festzustellen, ob das Labium wie etwa bei *Cimex lectularius* (s. Hase 1917) geknickt werden kann oder ob es wie bei *Psylla mali* (s. Weber 1929) teleskopartig verkuerzt werden kann.

3. *Die Gelenke des Labiums.*

Als Unterschungsmaterial dient *Triatoma megista.*

Das Apikalglied des Labiums, das etwa nur die Haelfte der Laenge des Mittelgliedes ausmacht, besitzt keine Muskeln. Das Innere wird ausgefuellt durch Leibeshoehlenfluessigkeit, Nerven und von der Labialrinne mit den Stechborsten (naehere Angaben zur Anatomie s. Barth 1952).

Die Artikulation mit dem Mittelglied verdient besondere Beachtung, da hier die Moeglichkeit bestehen koennte, das Labium beim Stich zu verkuerzen, wie von Weber fuer *Psylla mali* beschrieben (Fig. 4). Bereits Beobachtung des lebenden Tieres unter dem Binokular zeigt, dass die Beweglichkeit dieses Gliedes beschraenkt ist: Das Spitzenglied kann bis zu 75° nach beiden Seiten in der Frontalebene gebogen werden, nie nach oben und unten, d. h. in der Sagittalebene. Bei Anwendung von Gewalt zeigt es sich, dass in beiden Richtungen in der Sagitalebene durch Struktureigentuemlichkeiten des Skeletts fuehlbarer Widerstand geboten wird. Dasselbe gilt auch fuer das Gelenk zwischen Basal — und Mittelglied, nur ist hier auch die Beweglichkeit in der Frontalebene geringer, sie erreicht nicht mehr als 35°. Anders verhaelt sich die basale Artikulation des Labiums, die eine Bewegung in der Frontalebene nicht zulaesst, da die lateralen Gelenkkoepfe ohne laengere Membran direkt gegen die entsprechenden Teile der *bucculae* stossen. Dagegen kann das Basalglied dank seiner grossen Gelenkmembranen auf der Dorsal-und Ventralseite um mehr als 180° aus der Ruhelage an der Gula nach vorne geschwenkt werden. Die Bewegungsmoeglichkeiten sind in Fig. 5 dargestellt. Trotz dieser Einschraenkungen muss das Labium aber im Vergleich zu anderen *Heteroptera-Gruppen* (Raubwanzen, Blattwanzen) als sehr beweglich beurteilt werden, da durch die Kombination der frontalen Bewegungsmoeglichkeit des Mittel- und Endgliedes mit der sagittalen des Basalgliedes fast jede Richtung im Bereich des Mundfeldes erreicht werden kann. Dasselbe gilt fuer *Triatoma infestans, sordida* und fuer *Rhodnius prolixus*. Zum Vergleich wurde eine raeuberische Wanze, *Zelus leucogrammus,* herangezogen. Die Beweglichkeit des Labiums dieser Art ist wesentlich geringer: Die Gelenke zwischen Basal-und Mittelglied und zwischen letzterem und Apikalglied sind fast unbeweglich. Die Artikulation des Basalgliedes erlaubt nur eine Bewegung von kaum 90° in der Sagittalebene. Da das Labium eine bogige Form hat, weist die Oeffnung der Labialrinne schraeg nach unten und hinten. Ein Vergleich der Lebensweise beider Gruppen zeigt, dass die grosse Beweglichkeit des Labiums den Blutsaugern die Moeglichkeit gibt, das Opfer unter den verschiedensten Bedingungen anzugreifen, waehrend *Zelus* als Raeuber die Beute (kleinere Insekten, zumeist Fliegenarten) mit den klebrigen Fangbeinen immer in derselben Lage unterhalb des eigenen Kopfes festhaelt, so dass das aufgerichtete Labium ohne zeitraubendes Suchen in jedem Falle zielsicher auf die Beute trifft, die vermittels der Stechborsten durch den Speichel gelaehmt und getoetet wird.

Eine mikroskopische Unterschung des Gelenks zwischen Mittel- und Endglied ergibt volle Uebereinstimmung mit dem morphologischen Befund: In Fig. 6, in der nur Chitin und Muskeln schematisch dargestellt sind, zeigen sich im sagittalen Laengsschnitt die beiden Gelenkkoepfe (K_1 und K_2), die als Drehpunkte bei der Bewegung in der Frontalebene dienen. In der Fig. 9 a erkennt man im Querschnitt die starke Verdickung der harten Exocuticula (schwarz, GK).

Es ergibt sich, dass das Labium der *Triatominae* beim Stich nicht oder nur unwesentlich (nur wenige micra) zusammengeschoben werden kann. Da bisher nicht beobachtet wurde, dass sich das Labium beim Stich einwinkelt, bzw. da eine solche Einwinkelung etwa wie bei *Cimex lectularius* morphologisch nicht moeglich ist, ergibt sich die Notwendigkeit, nach einer Einrichtung zu suchen, die entsprechend den Darlegungen Webers und Brochers fuer *Homoptera* dazu geeignet ist, die Aktionslaenge der Stechborsten der *Triatominae* wesentlich zu vergroessern.

4. Das Apikalglied des Labiums.

Zur makroskopischen Anatomie des Labiums wurde folgende Methode angewandt: Faerben des Kopfes mit Labium in Saeurefuchsin (1 %ige waessrige Loesung, 2 — 3 Stunden), auswaschen der ueberfluessigen Farbe in H_2O, entwaessern und infiltrieren mit Gummi-Paraffin (gesaettigte Loesung von Naturgummi in Paraffin vom Schmelzpunkt 56° — 58°). Das mit Xylol oder Benzol gesaeuberte Labium wird bis zur Haelfte horizontal liegend in Paraffin eingeschmolzen und dann unter dem Binokular praepariert. Die anatomischen Befunde des Mittel-und Apikalgliedes gibt Fig. 7 wieder.

Brocher und Weber beschrieben fuer *Homoptera* klammerfoermige Organe in der Labialrinne ("mamelon crochus du rostre" nach Brocher, "fingerfoermige Fortsaetze" nach Weber), die von ersterem in der Funktion verkannt wurden, von Weber aber richtig als Klammerapparate mit eigener, komplizierter Muskulatur gedeutet wurden: Der Apparat fixiert durch die Elastizitaet der Cuticula gespannt die zwischen seinen Spitzen hindurchlaufenden Mandibeln in der augenblicklichen Lage. Bei Bewegungen der Stechborsten in beiden Richtungen wird der Griff der Klammern durch Muskel gelockert. Ist beim Stich die Kontraktionsfaehigkeit der Protraktoren erschoepft, so werden die Mandibeln wiederum festgehalten und der antagonistische Muskel (Retraktor) spannt seinen Partner aufs Neue. Wenn dieser Vorgang beim Vorstrecken der Stechborsten mehrmals eingetreten ist, sind letztere um ein Mehrfaches der Kontraktionsmoeglichkeit des Protraktors in das Wirtsgewebe eingedrungen.

Eine entsprechende Bildung bei *Heteroptera* wurde bisher nicht beschrieben.

An Hand einer Querschnittsserie durch das Labium (614 und 615) wurden Chitinskelett und Muskeln geprueft. Es zeigten sich an der Spitze des Apikalgliedes Chitinstrukturen, die im folgenden naeher beschrieben werden.

Den anatomischen Befund zeigt die Rekonstruktion von Mittel- und Apikalglied in Fig. 7. Das Labium ist durch einen Laengschnitt in der Frontalrichtung geoeffnet worden. Zur Ergaenzung dienen die Querschnitte in Fig. 8 und 9 a-d. Die Lage der Stechborsten geht aus Fig. 10 hervor.

Die Anatomie ergibt, dass das Apikalglied keine Muskeln besitzt und dass das Mittelglied ausser den Transversalmuskeln nur ein Paar von Laengsmuskeln hat, die die seitlichen Bewegungen des Apikalgliedes ermoeglichen, da sie mit langen Sehnen am Basalrand des Spitzengliedes ansetzen (Fig. 9 a, SH).

Von besonderem Interesse ist die Insertion der Muskelgruppen MUD, die den Verschluss der Labialrinne, der durch die Elastizitaet des Chitins dauernd vorhanden ist, waehrend des Stiches verstaerkt. Diese Notwendigkeit ergibt sich aus dem verstaerkten Druck im Augenblick des Eintritts der Mandibeln in das Wirtsgewebe. Ein gewaltsames Oeffnen der Rinne und damit eine Verbiegung der Stechborsten werden durch Kontraktion dieser Muskelgruppen verhindert. An der Spitze des Medialgliedes inserieren die ersten Buendel von MUD durch ein Sehnenpaar (Fig. 9 b, SH) an den Raendern der Rinne. Die Sehne wird im Anfang zusaetzlich durch lockere Tonofibrillen mit den Raendern verbunden. Das Sehnenpaar schliesst sich bald darauf (nach dem ersten Viertel der Gesamtlaenge des Medialgliedes) unterhalb der Rinne zusammen und formt eine unpaare Sehne, die mit den Seitenraendern der Rinne in Verbindung bleibt und erst kurz vor der Basis des Gliedes endet. Die Kontraktion von MUD wird ueber die Sehne und die Tonofibrillen auf die Rinne uebertragen, ihren Verschluss verstaerkend. Die gleichen Verhaeltnisse finden sich im Basalglied. Durch Einschaltung dieser langen, gemeinsamen Sehne wird eine gleichmaessige Auswirkung der Kontraktion der langegstreckten Muskelgruppe auf den Verschluss der Rinne ermoeglicht.

Diese Einrichtung fehlt dem Spitzenglied, doch wird die Spannung zum Verschluss der Rinne im Augenblick des Einstichs der Stechborsten erreicht durch direkte Kraftuebertragung der Kontraktion von MUD des Mittelgliedes durch die Chitinleiste in der Tiefe der Labialrinne im Apikalglied (CL in Fig. 8).

Das Bild des Querschnittes (Fig. 8) bleibt im Apikalglied bis kurz vor der Spitze erhalten. Etwa 200 micra vor der Spitze vereinigt sich die Chitinleiste mit der ventralen Aussenwand des Gliedes, dessen Hohraum in zwei Teile zerlegend (Fig. 11 d.). Um den inneren Teil der Labialrinne bildet sich ein Paar von Spaltraeumen aus, von dem bei 60 micra vor der Spitze (Fig. 11 c) eine weitere abgerundete Hoehlung abzweigt, die sich ventral unter die Rinne legt. Waehrend die ersteren Spaltraeume bei 15 micra (Fig. 11a) vor der Spitze verschwunden sind hat sich bei 60 micra der den unpaaren Spaltraum umgebende Chitinteil aus seiner Umgebung abgeloest, so dass ein beweglicher Zapfen gebildet ist, der in Fortsetzung des Bodens der Labialrinne bis zum Ende des Labiums laeuft. Von P 60 an ist die Labialrinne nicht mehr geschlossen und das Apikalglied besteht hier aus zwei unabhaengigen Haelften, die im ventralen Teil ihrer Beruehrungsflaeche eine Hoehlung freilassen, in der (als Fortsetzung der Labialrinne) die Stechborsten laufen und die ventralwaerts durch den zitierten Zapfen abgeschlossen wird (Fig. 11 a und 11 b). Die innere

Wand des Zapfens ist stark chitinisiert und wirkt wie eine blattfoermige Feder, so dass der Zapfen immer in der Hoehlung zwischen den beiden Haelften des Apikalgliedes liegt. Der Zapfen ist aus diesem Grunde nur selten in Totalpraeparaten zu finden.

Eine weitere Sonderbildung erfahren die Chitinteile der Spitze. Zur Untersuchung der Skeletteile wurde eine Querschnittsserie (Nr. 222 L) mit Congorot 1 % in 96 %igem Alkohol bei 60° waehrend 2 Stunden) nach Vorbehandlung mit Phosphorwolframsaeure (1% in 100 %igem Alkohol bei 60° waehrend 6 Stunden) gefaerbt. Hierdurch konnte eine einwandfreie Trennung von Exo-und Endocuticula erzielt werden (Exocuticula gelb, Endocuticula rot).

Bereits bei P 105 gewinnt die Exocuticula an den Seiten an Staerke (Fig. 11 d, MK). Bei P 60 ist an diesen Stellen die Endocuticula verschwunden und das Skelett zeigt hier eine starke, elastische Spange. An den inneren Begrenzungsflaechen bilden sich bei MK_1 weitere exocuticulare Strukturen aus, die bei P 30 sich mit den aeusseren zusammenschliessen und einen Hohraum umgeben. Hierdurch wird eine starke Doppelfeder gebildet, die irgendwelche Formveraenderungen an der Spitze des Apikalgliedes wieder rueckgaengig macht. Dass diese Teile mechanisch stark beansprucht werden, zeigt sich bei P 15, wo noch die innere Spange erhalten ist, die durch deutliche Faserstrukturen mit der Endocuticula verbunden ist (Fig. 11a, TO).

Es muss an dieser Stelle auf eine Sonderbildung aufmerksam gemacht werden, die sich im Kanal der Stechborsten befindet und bisher in der Literatur noch keine Beruecksichtigung gefunden hat. Die Wand des Kanals ist in den letzten 200 — 300 micra ihres Verlaufes mit Laengsrinnen ausgeruestet, auf deren Raendern in geringen Abstaenden duenne, kurze (3 — 5 micra lange) Chitinstacheln stehen. Die Mandibeln, weniger stark die Maxillen, tragen auf der Aussenseite ebenfalls Laengsrinnen. Die Hoehe der Laengsrinnen nimmt zum Kopf hin ab. In der Ruhe finden sich bis zur Mitte des Labiums tiefe Laengsrinnen, in der Mundhoehle sind nur noch schwache Laengsstrukturen zu erkennen. In der natuerlichen Lage umfasst die Wandung des Kanals die Mandibeln, so dass die Stacheln bei der Bewegung der Mandibeln an letzteren entlang schleifen. Es ist zu vermuten, dass hierdurch eine Reinigung der Mandibeln beim Zurueckgleiten aus der Stichwunde erzielt wird. Diese Einrichtung wird als Mandibelbuerste bezeichnet (siehe hierzu Fig. 11a—d, MB und Fig. 12, MF).

Aus der beschriebenen Anordnung der Teile der Exocuticula an der Spitze des Apikalgliedes muss geschlossen werden, dass in der Ruhelage diese Teile wie eine Feder wirken und die Haelften des Apikalgliedes zusammenpressen. Da durch seine verstaerkte Innenwand der genannte Zapfen ebenfalls nach innen gedrueckt wird, erfolgt eine Verengung des Stechborstenkanals, wodurch die Borsten in der jeweiligen Lage durch die Elastizitaet des Chitins festgeklemmt werden.

Dass dieser Sperrmechanismus (Mandibelklammer) nicht durch den Druck des Labiums auf die Haut des Wirtes beim Stich geloest wird, geht aus den Beobachtungen am narkotisierten Tier hervor, das

die Stechborsten normal in beiden Richtungen bewegen kann. Die Oeffnung der Mandibelklammer kann demnach nur durch Muskelzug erfogen.

Da im Apikalglied keine Muskeln gefunden werden, wurden die Muskeln des Mittelgliedes einer kritischen Beurteilung unterworfen. Es ergab sich, dass zur Loesung der Mandibelklammer die beiden grossen Laengsmuskeln des Mittelgliedes herangezogen werden. Die Muskeln inserieren in vielen Einzelbuendeln auf einer grossen Flaeche an der dorsalen Wandung des basalen Teils des Mittelgliedes und besitzen eine etwa 1 800 — 2 000 micra lange Sehne, die an den Seiten des Basalrandes des Apikalgliedes eingelassen sind (Fig. 6). Der Mechanismus der Mandibelklammer ist funktionsanatomisch wie folgt zu analysieren:

In der Ruhelage werden in der Labiumspitze die Stechborsten durch den Zapfen, der durch seine Federkraft in die Rinne gedrueckt wird, unter den Druck der elastischen Teile der Exocuticula, besonders der "Doppelfederung" gebracht und festgeklemmt. Sollen die Stechborsten in der Laengsrichtung bewegt werden, kontrahieren sich die beiden fiederfoermigen Laengsmuskeln (Fig. 6, MUL) im Mittelglied gleichzeitig. Dem Zug ihrer Sehnen kann das Apikalglied nicht als Ganzes folgen, da durch die Gelenkhoecker in der Medianlinie und durch die von ihnen ausgehenden Versteifungsleisten ein Eintritt in das Mittelglied verhindert wird. Der Zug der Sehnen wirkt sich nur auf die Seitenlinien des Apikalgliedes aus. Infolgedessen ergibt sich an der aeussersten Spitze des Labiums eine Dilation zwischen den beiden Haelften des Labiums, wobei die Exocuticularteile der "Doppelfederung" die Seiten des Dilatationsdreiecks darstellen. Der Zapfen ist jtzt nicht mehr fixiert und die Stechborsten sind beweglich. Bei Erschlaffen der Muskeln MUL werden die Stechborsten durch die Elastizitaet des Chitins in der augenblicklichen Lage gehalten.

Die Mandibelklammer steht vergleichend anatomisch im Gegensatz zu den "fingerfoermigen Fortsaetzen", die bei *Homoptera* gefunden werden. Waehrend bei letzteren spezielle Muskeln zum Oeffnen herangezogen werden, wird bei den *Triatominae* bereits vorhandene und mit ihrer urspruenglichen Aufgabe (das Apikalglied zu bewegen) beschaeftigte Muskulatur (MUL) gleichzeitig mit einer anderen Aufgabe (die Mandibelklammer zu oeffnen) betraut. Letzteres kann jedoch nur bei einer gleichzeitigen Kontraktion vor sich gehen, d. h. dass die Muskeln bei einer gewissen Nervenschaltung das Spitzenglied zur Seite bewegen (alternierende Impulse), bei einer anderen dagegen die Mandibelklammer loesen (koordinierende Impulse).

Aus den bisherigen Darlegungen ergeben sich fuer den Stechvorgang folgende Einzelvorgaenge:

1. Vorstrecken des Labiums durch Kontraktion der Adduktoren des Labiums.
2. Gleichzeitige Kontraktion der beiden Laengsmuskeln (MUL) im Mittelglied des Labiums und damit Loesung der Mandibelklammer.

3. Gleichzeitige oder wechselweise Kontraktionen der Protraktormuskeln der Stechborsten.
4. Erschlaffen des MUL.
(Mehrmalige Wiederholung der Takte 2 — 4, bis die Kontraktionsfaehigkeit der Protraktoren der Mandibeln erschoepft ist. Es folgt:)
5. Erschlaffen der Protraktoren.
6. Kontraktion der Retraktoren. Dadurch wird der Artikulationshebel der Mandibel wieder zurueckgefuehrt und die Protaktoren werden neu gespannt. Diese Bewegung ist moeglich, da am Ende der Mandibel unter Faltenbildung letztere in den tentorialen Fuehrungskanal uebergeht, d. h. das "retortenfoermige Organ" wird handschuhfingerartig ineinander geschoben und die belastete Stelle der Tonofibrillen am Ende der Mandibel wird weiter nach oben verlagert .
7. Das Vordringen der Stechborsten kann mit Nr. 2 beginnend (s. oben) weiter forgesetzt werden, bis die Nahrungsquelle erschlossen ist und der Pharynx durch den Nahrungskanal der Maxillen die Nahrung ansaugen kann.

Das Zurueckziehen erfolgt durch eine Bewegunskombination im umgekehrten Sinne, wobei die Falten in den tentorialen Kanaelen wieder ausgeflacht werden und die Einstuelpung am Ende der Mandibeln wieder rueckgaengig gemacht wird, wodurch im Tonofibrillenband (zum Artikulationshebel der Mandibel) die urspruengliche Belastung der unteren Fibrillen der Uebergangstelle wieder hergestellt wird.

5. Das Kontrollorgan der Mandibeln.

Nach den Untersuchungen Guldes, Webers, Zweigelts und anderer Autoren wie auch nach den oben zitierten Ergebnissen und den Beobachtungen an lebenden Tieren ist die Mechanik der Bewegung der Stechborsten soweit geklaert, dass sich ein abgeschlossenes Bild hiervon entwerfen liess. Ebenfalls muss als erwiesen angenommen werden, dass die *Hemiptera* die Faehigkeit haben, die Richtung des vordringenden Stechborstenbuendels auf die guenstigste Nahrungsquelle zu orientieren. Wie aus den Beobachtungen an lebenden Tieren leicht ersichtlich ist, werden die *Triatominae* durch den Geruchssinn aus mehr oder weniger grosser Entfernung zum Wirt gefuehrt. Die Geruchsorgane finden sich auf den Antennen (Wiggelsworth). Es ist hier einzufuegen, dass evtl. auch Waermewahrnehmung — wenigstens auf kuerzere Entfernung — mitspielt (Wiggelsworth, Barth). Es konnte hier nicht beobachtet werden, dass frisch abgetoetete, aber schon erkaltete Maeuse auf ausgehungerte *Triatominae* eine anziehende Wirkung ausuebten. Die Pruefung des Substrates und die Auswahl des Ortes fuer den Stich erfolgt durch die Spitze des Labiums, die am aeussersten Ende eine Anzahl kurzer, kuppelfoermiger, duennwandiger Sinneskoerper traegt, denen die Rezeption chemischer Reize zugeschrieben werden

muss. Darueber hinaus ist das gesamte Spitzenglied mit Sinnesborsten fuer taktile Reize ausgeruestet, die dem in Fig. 13 dargestellten Typ entsprechen.

In das Gewebe des Wirtes dringen nur die Stechborsten ein, die ausschliesslich aus Chitin bestehen, die keine Sinneskoerper tragen und keine Nerven besitzen. Es bliebe demnach einerseits dem Zufall ueberlassen, ob das Tier beim Stich eine ausgiebige Ader trifft berzw. mehrmals stechen muss, andererseits wuerden die Stechborsten die Ader perforieren und so ueber das Ziel hinausschiessen, wenn nicht eine augenblickliche Kontrolle des Stiches moeglich waere. Ueber diese Frage ist von verschiedenen Autoren (Weber, Zweigelt) gearbeitet und diskutiert worden. Nach Weber sind den Tieren zwei Kontrollmoeglichkeiten gegeben: Einerseits koennen Intensitaet und Schwankung des Druckes durch direkte Kraftuebertragung vermittels der starren Stechborsten beim Durchdringen des Gewebes dem Tier Auskunft geben. Andererseits wird durch das Geschmacksorgan im Epipharynx eine chemische Kontrolle des aufsteigenden Blutstromes durchgefuehrt, die sich ebenfalls als steuernder Reiz auswirkt. Letzteres trifft fuer die *Triatominae* zweifellos zu, denn das epipharyngeale Organ ist hier wohlentwickelt (Barth, 1952). Die Wahrnehmung des Druckes dagegen, Weber folgend, erfolgt in den "retortenfoermigen Organen", d. h. in den Basen der Stechborsten. Eine Ueberpruefung dieser Teile ergab jedoch nur das Vorhandensein von relativ wenigen, freien Nervenendigungen; irgendeine spezialisierte Innervierung war nicht festzustellen. Die funktionsanatomische Betrachtung zahreicher Organe der Tiere, besonders der Insekten, zeigt, dass Organe von ausschlaggebender Bedeutung fuer die Erhaltung der Art von speziellen Sinnesorganen gelenkt werden. Besonders haeufig finden sich solche Kombinationen zwischen Geschlechts-, Bewegungs-und Ernaehrungsapparat einerseits und entsprechenden Sinnesorganen andererseits, so dass hier von funktionellen Apparatkomplexen gesprochen werden muss. Die Unterbrechung des Komplexes unterbindet zwar nicht immer die Funktion des betreffenden Organs, verhindert aber die Kombination mit den Aussenfaktoren und fuehrt damit mehr oder weniger vorzeitig zum individuellen Tod und gefaehrdet damit den Bestand der Art. Im vorliegenden Falle handelt es sich um den Ernaehrungskomplex, der unter allen Umstaenden gesichert sein muss, so dass sich auf spekulativem Wege die Notwendigkeit eines die Mandibeln begleitenden Sinnesorgans ergibt.

Die kritische Durchsicht einiger Querschnittsserien (67, 85, 192, 222) ergab das Vorhandensein eines bisher noch nicht in der Literatur angefuehrten Organs, das sich bei naeherer Analyse als kompliziertes Sinnesorgan zur Kontrolle der Bewegung der Mandibeln erwies:

Zur Lage und Konstruktion dieses Organs vergleiche Fig. 14 und 15. Es besteht aus einer weitgehend spezialisierten Ausstuelpung des Endes des parietalen Astes des Tentoriums. Diese Ausstuelpung biegt als sehr duenner Strang zur Spitze des Kopfes um, legt sich mit einer blasigen Erweiterung an den Artikulationshebel der Mandibeln an und

tritt schlauchfoermig in die Antenne ein. Das Ende dieses Schlauches ist mit zwei Buendeln von Tonofibrillen kurz vor der Spitze der Antenne an deren Wandung aufgehaengt. In der Spitze des Pedicellus zwischen der Borstengrube (BARTH, 1952) und dem Johnston'schen Organ entsendet der Schlauch ein einzelnes grosses Scolopidium an die Wandung der Antenne. Der ableitende Ast der Sinneszelle hat Anschluss an den inneren der beiden Nervenaeste der Antenne (NaI). Der Verlauf des Organs (im folgenden OX genannt) wird vom Beginn der Abzweigung vom Tentorium im folgenden beschrieben. Dieser Punkt wird als Bezugspunkt (P 1) gewaehlt. Die Lage der beschriebenen Punkte ist aus dem Gesamtschema des OX in Fig. 14 zu entnehmen.

P 1 — 3 (Fig. 16 a-c): P 3 (Fig. 16 c) gibt eine Orientierung ueber die Lage des Endes des Tentoriums im Querschnitt. Der mittlere, staerker sklerotisierte Teil ist mit Tonofibrillen an der unteren Platte des Pharynx befestigt. Oberhalb des Gelenkwinkels des Pharynx liegt die Maxille mit ihren Protraktoren (MUX) und das Ende der Mandibel (= retortenfoermiges Organ). Die starken Tracheen sind Verzweigungen der Haupttrachee des Kopfes, die die Dilatatoren des Pharynx mit Luft versorgen. Von den genannten Muskeln aus gesehen zur Koerperwand (gestrichelt angedeutet) findet sich der Anfang des vom Tentorium abzweigenden Schlauches des OX. Die Abzweigung beginnt in P 2 (Fig. 16b), waehrend P 1 (Fig. 16a) das Ende des Tentoriums wiedergibt, wobei der sich abzweigende Teil punktiert hervorgehoben ist.

P 4 — 8 (Fig. 16 d — g): Der sich zum Vorderkopf wendende abgezweigte Teil des Tentoriums rundet sich mehr oder weniger zu einem Schlauch ab und verringert seinen Durchmesser (P 4). Das Chitin seiner Innenseite ist sehr duenn, gibt aber mit Congorot eine deutliche Rotfaerbung. Das Plasma ist kernarm und fibrilloes. Zwischen P 3 und P 5 verringert sich der Durchmesser sehr stark, so dass an dieser Stelle der Schlauch vollstaendig geschlossen ist. Von P 6 an beginnt der Schlauch ploetzlich sich zu erweitern und bildet im folgenden eine blasenfoermige Auftreibung, deren groesster Durchmesser in P 8 erreicht ist. Waehrend der Schlauch bis P 6 frei in der Kopfhoehle zwischen den Augen liegt, wird die Erweiterung durch Tonofibrillen an der Kopfwand und den umgebenden Organen befestigt.

P 9 (Fig. 16 i): Die Blase tritt an den Artikulationshebel der Mandibel heran und wird mit diesem durch Tonofibrillen verbunden bezw. legt sich an dessen Hypodermis fest an.

P 10 — 16 (Fig. 16 k — q): In der Blase bildet sich in der Mitte parallel zum Artikulationshebel eine Scheidewand aus (SW in Fig. 16 k — m), die distal einen Teil (P 11) abschnuert, waehrend der proximael Teil am Artikulationshebel verbleibt und wenige micra weiter nach vorne (P 14) endet. Der abzweigende Teil ist nur anfaenglich mit Tonofibrillen mit dem Artikulationshebel verbunden; er verringert seinen Durchmesser und rundet sich zu einem Schlauch ab (im folgenden "antennaler Schlauch" genannt) (P 15 und P 16). In P 16 entfernt sich der antennale Schlauch vom Artikulationshebel und tritt

in den "Antennenkomplex" ein, der sich aus dem *nervus antennalis,* der Antennentrachee und den beiden Sehnen der *musculi adductor* und *abductor* der Antenne zusammenzetzt. Von hier ab durchlaeuft das OX die gesamte Antenne parallel zur Antenentrachee, mit der es mehr oder weniger eng verbunden bleibt.

P 17 (Fig. 16 r): Querschnitt durch das Ende des Tuberkels der Antenne mit dem unteren Rand des Scapus. Der Antennennerv teilt sich an dieser Stelle. Von hier ab besitzt die Antenne bis zur Spitze zwei Nervenaeste (NaI auf der Innenseite und NaII auf der Aussenseite der Antenne).

P 18 (Fig. 16 s): Querschnitt durch den basalen Teil des Pedicellus mit den zwei Nervenaesten, der Haupttrachee und dem antennalen Schlauch des OX.

P 19 (Fig. 16 t): Querschnitt kurz vor dem Ende des letzten Antennengliedes. Die zahlreichen Sinnesborsten sind nicht eingezeichnet. In der duennen Hypodermis liegen zahlreiche Sinneszellen, die die Hypodermiszellen teilweise vollstaendig verdecken. Quer durch die Antenne spannt sich ein Komplex gebildet vom Ende des antennalen Schlauches des OX, der Haupttrachee und zahlreichen Tonofibrillen, die sich an die Sinneszellen anzulegen scheinen, in Wirklichkeit aber an der von letzteren verlagerten Basalmembran der Hypodermis inserieren.

Das ganze System von der Erweiterung am Artikulationshebel bis zur Spitze ist mit einer Fluessigkeit gefuellt, die mit allen angewendeten Fixadoren dargestellt wird (Carnoy, Bouin, Flemming, Gilson, Susa, Zenker). Waehrend des ganzen Verlaufes durch die Antenne liegt das OX der Antennentrachee eng an, mit der Antennenwandung steht das Organ — abgesehen vom Ende im letzten Flagellumglied — nirgends in direkter Verbindung.

Ein Anschluss an das Nervensystem und eine indirekte Verbindung zur Antennenwand findet sich im Endteil des Pedicellus kurz vor dem Johnston'schen Organ. Letzteres hat nur eine relativ geringe Ausbildung erfahren. Es besteht aus einer groesseren Anzahl (45 — 50) von Scolopidien, die einerseits am Ende des Pedicellus, andererseits an der Antennenwand inserieren. Sie sind ohne erkennbare Ordnung auf dem ganzen mfang des Pedicellus angeordnet, ihre ableitende Nervenfasern schliessen sich zu vier Buendeln zusammen, von denen je zwei in einen der beiden Antennennerven mueden. Die stark vergroesserte Endocuticula an der Spitze des Pedicellus ist zu Lamellen aufgelockert (Fig. 17, LA, ENL), die sich senkrecht zur verduennten Exocuticula stellen. In die Endocuticula ragen von der Exocuticula 4 Chitinspangen (Fig. 17, CSP), die zur Festigung der durch die Veraenderung geschwaechten Cuticula beitragen. Die Scolopidien setzen nicht an der Chitinspange an, sondern ausschliesslich an der verduennten Exocuticula. Zwischen die Lamellen draengt sich die Kappenzelle des Scolopidiums mit einem sehr duennen Chitinroehrchen, das sich distal als Invagination der Exocuticula erweist (Fig. 18, CRM) und proximal den "stiftfoermigen Koerper" des Scolopidiums bildet.

Zur folgenden Darlegung siehe die Fig. 19 und 20. Kurz hinter dem Beginn des zylindrischen Teils des Pedicellus findet sich auf der Rueckseite eine kleine, ovale Stelle mit verduennter Cuticula (Exo-und Endocuticula verduennt), an der das Scolopidium des OX inseriert (Fig. 15, OV). Der Ansatz erfolgt durch ein sehr duennes Chitinroehrchen wie bei den Scolopidien des Jonston'schen Organs, der Durchmesser seiner Muendung auf der Cuticula betraegt etwa 0,9 — 1,1 micra, der Durchmesser beim Austritt aus der Hypodermis 1,4 — 1,6 micra, der Innendurchmesser an dieser Stelle 0,5 — 0,7 micron, so dass die Staerke der Wandung mit etwa 0,45 micron angegeben werden kann. Beim Durchtritt durch das Synzytium der Hypodermis legt sich eine Hypodermiszelle (mit scharfen Grenzen) um das Roehrchen, sie ist entsprechend den Arbeiten Schwabes und anderer Autoren als "Kappenzelle" zu bezeichnen. Ihre Gestalt ist zylinderfoermig, ihr Plasma zeigt deutlich eine laengsstreifige Struktur. An ihrem Ende tritt das Chitinroehrchen in die nach innen folgende, eiformige "Huellzelle" mit lockerem, wabigen Plasma. Seine bisher gleichmaessig ausgebildete Wand bildet hier unter Zunahme des Gesamtdurchmessers drei Verstaerkungen aus, die sich in der Laengsachse des Roehrchens treffen und hier nur einen sehr duennen Durchgang freilassen. Unmittelbar dahinter schwillt das Roehrchen blasenfoermig an. Aus jeder der drei Chitinverdickungen entwickeln sich durch paarige Aufspaltung zuerst je 2, kurz darauf je 4 Laengsleisten, die anfangs duenner sind, zur Mitte der eifoermigen Blase an Staerke zunehmen, um dann wieder an Staerke zu verlieren. Kurz vor dem Ende der Blase schliessen sich je zwei Streifen zu einem zusammen, so dass das Ende und der kanalfoermige Ausgang aus der Blase von 6 Streifen gestuetzt wird. Nach dem kurzen Kanal erweitert sich der Komplex zu einer groesseren elipsoiden Blase (= Vakuole der erwaehnten Autoren), die eine sehr duenne Wandung besitzt, aber durch die 6 Chitinleisten gestuetzt wird. Dieses System von wechselnden Laengsleisten entspricht dem "stiftfoermigen Koerper" des normalen Scolopidiums der Insekten, wie er von Schwabe u. a. beschrieben wurde. Das Material der Laengsstreifen und der beiden Blasen besteht entsprechend dem mikroanatomischen Befund aus Exochitin, mit dem es dieselbe Faerbungspotenz gemeinsam hat.

In der Hoehe zwischen den beiden Blasen endet die "Huellzelle". Die zweite Blase wird von einem Auslaeufer der tiefer liegenden Sinneszelle umfast. Um das Ende der "Huellzelle" und um die Sinnneszelle legt sich eine Anzahl von "Faserzellen", die im folgenden das Ligament zum OX bilden.

An den drei Chitinverdickungen des Beginns der ersten Blase setzt ein duenner Nervenfaden an (Terminalfaden), der unter 0,2 micron im Durchmesser besitzt (Doppelkonturen sind nicht mehr zu erkennen). Die Art des Ansatzes war wegen der Feinheit der Strukturen auch mit staerksten Vergroesserungen nicht zu klaeren. Der Faden scheint etwas knopffoermig anzuschwellen und den Kanal zwischen den Verdickungen auszufuellen. Er durchlaeuft geradlinig die erste Blase, den Kanal

und die zweite Blase, die er durch eine Perforation am unteren Pol durchbricht, damit in die Sinneszelle eintretend. Die letztere erweitert sich nach einer kurzen Einschnuerung unterhalb der zweiten Blase birnenfoermig und besitzt einen sehr grossen Kern, der im Durchmesser der Staerke des antennalen Schlauches des OX nahe kommt. Der in die Sinneszelle eintretende Terminalfaden teilt sich in dieser in eine groessere Anzahl von Einzelfaeden auf, die sich am proximalen Pol der Zelle zu einem 0,4 — 0,5 micron dicken Buendel zusammenschliessen, das in den zentripetalen Fortsatz der Zelle laeuft und mit diesem den Verband der Faserzellen verlaesst.

Die Faserzellen in einer Anzahl von 8 — 12 zwischen der Sinneszelle und dem OX bilden hintereinanderliegend und teiweise mit diagonalen Waenden aneinander stossend das Ligament. Ihr Plasma ist in streifigen Strukturen parallel zur Laengenerstreckung angeordnet. Am OX inseriert die letzte Zelle oder das letzte Paar von Faserzellen auf der Basalmembran. Das Ligament ist keine Abzweigung des antennalen Kanals des OX, sondern nur eine Verbindung zwischen der Hypodermis des Kanals mit der Hypodermis der Antennenwand in Form einer Zellreihe, deren Plasma faserige Zuglinien zeigt, die vielleicht als Tonofibrillen zu bezeichnen sind.

Das Organ in einer aehnlichen Ausbildung wurde sowohl in den Koepfen der blutsaugenden Formen *Triatoma megista* und *sordida* und *Rhodnius prolixus* gefunden wie auch in den raeuberischen Arten *Sirthena stria, Bactrodes bimaculatus* und *Zelus leucogrammus* und in den Pflanzensaugern *Edessa rufomarginatus, Leptoglossus spp., Acanthocephala latipes* und *Mecistorhinus mixtus*.

Die Funktion dieses Organs ergibt sich aus seiner Anatomie im Vergleich mit Beobachtungen am lebenden Tier: Die Verbindung zwischen dem Ende des Tentoriums und der blasigen Erweiterung am Artikulationshebel der Mandibel ist geschlossen. Die Blase des OX und der antennale Schlauch sind mit Fluessigkeit gefuellt. Eine Vorwaertsbewegung der Mandibel vermittels des Artikulationshebels ergibt eine Zerrung der Blase in der Laengsrichtung und damit durch Verringerung des Durchmessers eine Erhoehung des Fluessigkeitsdrukkes, der sich in den antennalen Schlauch des OX fortsetzt und vom Scolopidium aufgefasst wird.

Beobachtung an saugenden Wanzen — besonders deutlich bei raeuberischen Formen (*Zelus leucogrammus, Sirthena stria* u. a.) — zeigt, dass der Scapus in typischer Weise unmittelbar vor und waehrend des Stiches schraeg nach oben und aussen gerichtet wird, wie es in Fig. 22 dargestellt ist. Die anderen Glieder werden jeweils um annaehernd 60° — 70° nach unten gebogen. Bei Beginn des Saugens werden die Antennen gestreckt und nach oben und hinten bewegt. Bei jedem wiederholten Einstich erfolgt die gleiche Neigung und Knickung der Antennenglieder. Diese typische Bewegung ist in der Weise mit der Funktion des OX in Einklang zu bringen, dass durch die Knickung die Wandung des Organs, besonders der OX — Blase, gespannt wird, um eine Druckerhoehung sofort wahrnehmen zu koennen. Diese

Spannungserhoehung ist moeglich, da der antennale Schlauch bei eingewinkelten Gliedern einen laengeren Weg bis zur Antennenspitze benoetigt als bei gestreckter Antenne, da die Anzahl der Grenzen zwischen den Antennengliedern durch Einschaltung der Zwischenglieder verdoppelt ist und die Einschnuerungen sehr tief in die Antenne eindringen.

Ungeklaert bleibt die Herkunft der Fluessigkeit in der OX-Blase und dem antennalen Schlauch des OX.

6. Zusammenfassung.

Es wird der Mechanismus des Stichs der *Triatominae* untersucht unter Beruecksichtigung der bisher bekannten Untersuchungen an *Heteroptera* und *Homoptera*. Es zeigt sich dabei, dass die Literaturangaben nicht ausreichen, um den Stechvorgang der *Triatominae* zu klaeren.

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen und Lebendbeobachtungen laesst sich folgendes Bild gewinnen:

Eine extrem starke Muskelkontraktion des Protraktors kann die Mandibeln im Hoechstfalle 500 micra bei der Imago von *Triatoma infestans* vorwaertsstossen.

Eine ausreichende Nahrungsquelle in der Haut des Wirtes (Mensch) kann erst in einer Tiefe von wenigstens 1 000 — 1 500 micra erwartet werden.

Das Labium kann weder verkuerzt noch eingewinkelt werden.

In Parallele zu den *"fingerfoermigen Fortsaetzen"* (Weber) oder den *"mamelons crochus"* (Brocher) findet sich an der Spitze des letzten Labialgliedes eine Einrichtung, die Mandibeln in einer bestimmten Lage festzuhalten. Nach Erschoepfung der Kontraktionsmoeglichkeit der Protraktoren der Mandibeln werden letztere in der augenblicklichen Lage fixiert. Darauf erfolgt eine Dehnung der Protraktoren und nach Loesen der Haltevorrichtung (Mandibelklammer) koennen die Protraktoren die Mandibeln wiederum um etwa 500 micra vorwaertsbewegen. Dieser Vorgang kann mehrmals wiederholt werden.

Mit der Mandibelklammer ist eine Putzeinrichtung im vorderen Teil der Labialrinne in Form einer Buerste verbunden.

Im Kopf der *Triatominae* findet sich ein ueberaus kompliziertes Kontrollorgan fuer mechanische Reize, das das Vordringen der Mandibeln im Gewebe des Wirtes ueberwacht. (Das ergaenzende Rezeptionsorgan fuer chemische Reize ist das schon oefter beschriebene epipharyngeale Geschmacksorgan.)

Das Organ ist eine schlauchfoermige und nach vorne umbiegende Verlaengerung des Endes des Tentoriums. In der Naehe des Artikulationshebels der Mandibel erweitert sich der von Fluessigkeit gefuellte Schlauch zu einer Blase, die an dem genannten Hebel und der Kopfwand direkt bezw. durch Tonofibrillen befestigt ist. Von hier aus setzt sich der Schlauch durch die ganze Antenne fort, er inseriert blind ge-

schlossen mit zwei Buendeln starker Tonofibrillen an der Spitze des letzten Antennengliedes.

Unmittelbar vor dem Johnston'schen Organ setzt an dem Schlauch des Kontrollorgans ein sehr grosses Scolopidium an, das seine Gegeninsertion an der Wandung der Antenne (Pedicellus) hat. Jede Zerrung der Blase an dem Hebel der Mandibel aendert den Druck in der Fluessigkeit des Organs. Die Druckaenderung wird von dem Scolopidium aufgenommen.

Das Scolopidium zeigt einen Endapparat, der eine Invagination der Cuticula der Wandung der Antenne derstellt. Dieselbe Bildung findet sich in den Scolopidien des Johnston'schen Organs.

Das Organ findet sich sowohl bei den blutsaugenden Gattungen *Triatoma* und *Rhodnius* wie auch bei mehreren raeuberischen und pflanzensaugenden Gattungen. Es ist zu vermuten, dass das Organ unter den *Heteroptera* weit verbreitet ist, evtl. einen Teil des Grundbauplanes der *Heteroptera* darstellt. Der hohe Ausbildungsgrad dieses Kontrollorgans deutet darauf hin, dass es fuer den Bestand des Lebens der Arten von grosser Bedeutung ist.

7. *Literatur.*

AWATI, P. R.,

1914. The mechanism of suction in *Lygus pabulinus L.* Proc. Zool. Soc. London: 685-733.

BARTH, R.,

1937. Muskulatur und Bewegungsart der Raupen usw. Zool. Jb. Anat. 62 : 507-566, 18 figs.

BARTH, R.,

1952. Anatomische und histologische Studien ueber die Unterfamilie *Triatominae (Heteroptera, Reduviidae)*. 1. Teil: Der Kopf von *Triatoma infestans*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz Vol. 50 : 69-196, 36 figs, 1 tab.

BARTH, R.,

1952. Die Borstengrube des Fuehlers von *Triatoma infestans*. 6 figs. Boletim do Instituto Oswaldo Cruz, fasc. 5.

BERLESE, A.,

1893 — 1896. Le cocciniglie italiane vivante sugli agrumi parte 1, Riv. di. pat. Anno II, 1893; parte 2, ibid. Anno III, 1894; parte 3, ibid. Anno IV-V, 1895-1896.

BRITTAIN, W. H.,

1922. The morphology and synonymy of *Psylla mali Schmidberger*. Proc. acad. Ent. Soc. N. Brunswick 1922 : 25-51

BROCHER, F.,

1925. L'appareil buccal des larves de *Psylla pyrisuga*. Ann. de la soc. Ent. France 94

BUGNION, E UND POPPOFF, N.,

1911. Les pièces buccales des Héiniptères.
Arch. de zool. exp. et gén. 5. sér. 7

COSTA LIMA, . DE,

1940. Insetos do Brasil.
Esc. Nac. de Agronom., série did. Nr. 3., Rio de Janeiro

DAVIDSON, J.,

1914. On the mouth parts and mechnism of suction in *Schizoneura lonigera Hausmann*.
Journ. of the Linnean Soc. (Zool.) 32

DAVIDSON, J.,

1923. The penetration of plant tissues and the source of food supply of Aphids.
Ann. appl. biol., 10

ELSON, J. A.

1937. A comparative study of *Hemiptera*.
Ann. Ent. Soc. Am., 30

GROVE, A. J.,

1919. The anatomy of the heald and mouth parts of *Psylla mali* etc.
Parasitology, 11.

GRUNER, M.,

1901. Biologische Untersuchungen an Schaumzikaden.
Diss. Berlin, 1911

GULDE, I.,

1919. Die Larvenstadien der Asopiden.
Dtsch. entomol. Zeitschr. 1919.

HASE, A.,

1917. Die Bettwanze (*Climex lectularius* L.), ihr Leben und ihre Bekaempfung.
Monogr. zur angew. Entomol. Nr. 1, Berlin.

HEARGREAVES, E.,

1915. The life history and habits of the greenhouse white fly (*Aleurodes vaporariorum*).
Ann. app. biol., 1.

MINKIEWICZ, ST.,

1925. A study in the morphology and biology of *Psylla mali*.
Verhandl. 3. intern. Ent. Kongr. 1925 : 462-466.

PURI, I. M.,

1924. Studies on the anatomie of *Climex lectularius* I.
Parasitology, 16.

SCHWABE, J.,

1906. Beitraege zur Morphologie und Histologie der tympanalen Sinnesapparate der Orthopteren.
Zoologica 50 : 1-154, 17 figs. 5 tbs.

STOUGH, J.,
1910. The hackberry psylla, *Pachylla, C. mama*.
Kansas Univ. sc. bull. 5.

TOWER, D. G.,
1914. The mechanism of the mouth parts of the squash bug, *Anasa tristis*.
Ann. Ent. Soc. Amer. 7.

WEBER, H.,
1930. Biologie der Hemipteren.
Berlin 1930.

WEBER, H.,
1929. Zur vergleichenden Physiologie der Saugorgane der Hemipteren.
Zeitschr. f. vergl. Physiologie. 8 : 145-186, 14. figs.

WIGGELSWORTH, V. B., UND GILLET, J. D.,
1934. The function of the antennae in *Rhodnius prolixus* (*Hemiptera*) and the mechanism of orientation to the host.
Journ. exp. Biol. 11.

ZWEIGELT, F.,
1914. Beitraege zur Kenntnis des Saugphenomens der Blattlaeuse und der Reaktion der Pflanzelle.
Zentrbl. f. Bakteriol., Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Abtl. II, Orig., 42.

8. *Abkuerzungen in den Figuren*

AA	Aussenwand der Antenne
AC	Anteclypeus
AG	Apikalglied
AH	Artikulationshebel der Mandibel
AH'	Hypodermis des Artikulationshebels der Mandibel
AN	Antenne
BG	Basalglied
BK	Blutzelle
BO	Borste
BR	Borstengrube
BW	Bucculae
CL	Chitinleiste
CL'	Anfang der Chitinleiste
CO	Complexauge
CR	Chitinroehrchen
CRM	Chitinroehrchen des Scolopidiums mit Muendung
CSP	Chitinspange
CU	Cuticula
CV	Chitinverdickung
d	dorsal
DIL	Dilatatoren des Pharynx
do	dorsal
DOX	Dach der blasigen Erweiterung des Kontrollorgans
EN	Endocuticula
ENL	Endocuticula in Lamellenform
EX	Exocuticula
F	Filtrierpapier
FU	Fulcrum
FZ	Faserzelle

G	Gaze
GE	Gelenkkopf
GG_1,	GG_2 1. und 2. Geisselglied
HMD	Hohlraum der Mandibel
HMX	Hohlraum der Maxille
HYP	Hypodermis
HZ	Huellzelle
IO	Johnston'sches Organ
K	Korken
K_1	ventraler Gelenkkopf im Medialglied
K_2	dorsaler Gelenkkopf im Medialglied
K_{11}	ventraler Gelenkkopf im Apikalglied
K_{21}	dorsaler Gelenkkopf im Apikalglied
KA	tentorialer Kanal der Mandibel
KO	Kopf
KW	Kopfwand
KZ	Kappenzelle
l	links
LA	Lamellen
LB	Labium
LEI	Laengsleisten
LI	Ligament
LM	lamina mandibularis
LR	Labrum
LRI	Labialrinne
LX	lamina maxillaris
MB	Mandibularbuerste
MD	Mandibel
MG	Medialglied
MK	Mandibelklammer
MK_1,	MK_2 Reste der Mandibelklammer
MU	Muskel
MUB	Retraktor des Pistills der Speichelpumpe
MUD	Diagonalmuskeln des Labiums
MUL	Laengsmuskeln der Labialrinne
MUP	Protraktor der Mandibel
MX	Maxille
N	Nerv
NA	Antennennerv
NaI,	NaII innerer und aeusserer Nervenast in der Antenne
ND	Nervenfaden
NF	Kern der Faserzelle
NH	Kern der Huellzelle
NIO	Nerv des Johnston'schen Organs
NK	Kern der Sinneszelle
NKA	Nahrungsknal
NL	nervus labialis
NS	Nervenast zum Scolopidium des Kontrollorgans
NX	Kern des antennalen Schlauches
NZB	bipolare Sinnesnervenzelle
OC	Ozellen
OV	verduennte ovale Stelle in der Antennenwand
OXA	antennaler Schlauch des Kontrollorgans
OXB	blasige Erweiterung des Kontrollorgans
OXT	tentorialer Schlauch des Kontrollorgans
PD	Pedicellus
PH	Pharynx
r	rechts
RO	"retortenfoermiges Organ"
SA	Scapus

SB Stechborsten
SC Scolopidium des Kontrollorgans
SG Speichelgang
SH Sehne
SH_1 SH_2 erste und zweite Antennensehne
SIO Scolopidium des Johnston'schen Organs
SK Speichelkanal
SP Chitinspange
SW Scheidewand
SZ Sinneszelle
TF Terminalfaden
TK tentorialer Kanal der Mandibel
TO Tonofibrillen
TR Trachee
TRA Trachee der Antenne
TT Tentorium
v ventral
VA_1 VA_2 erste und zweite Vakuole
ve ventral
VE Verschluss der Labiallrinne
VEX Verschluss zwischen den Maxillen
ZG Zwischenglied

Métodos de trabalho na anatomia e histologia entomológica

de

Rudolf Barth

I. Introdução
II. Prescrição da preparação
III. Fixação
IV. Desidratação
V. Inclusão
VI. Cortes
VII. Coloração
VIII. Temas especiais
IX. Literatura
X. Índice
XI. Apêndice

I. Introdução.

No estudo de insetos surgem freqüentemente dificuldades durante os trabalhos morfológicos e principalmente histológicos e microanatômicos. Empregam-se métodos que de maneira nenhuma são indicados para insetos porque foram aprovados no homem, outros vertebrados e avertebrados não podendo ser aplicados no organismo totalmente diferente dos insetos. Como nota-se cada vez mais a falta de um resumo sôbre os métodos de trabalho na histologia e microanatomia entomológica pelos especialistas interessados, tentamos pela presente de apresentar uma publicação com esta finalidade.

As particularidades mais interessantes dos insetos que diferem-nos na comparação dos outros grupos do reino animal são: a) a cutícula quitinosa que inclui sem interrupção o organismo inteiro e a qual é freqüentemente reforçada e endurecida por incrustações, b) a falta de um sistema circulatório completo, c) a ausência de uma ligítima cavidade abdominal, d) a falta de tecido conjuntivo no sentido mais amplo pelo que a localisação dos órgãos não está fixada na cavidade aqui chamada mixoceloma (esta deficiência é compensada em parte funcionalmente pelas traquéias), e) a reação histoquímica dos tecidos freqüentemente diferente, f) a presença de órgãos que faltam nos ou-

tros grupos e que freqüentemente são tão minúsculos que um estudo isolado encontra as maiores dificuldades.

Os métodos descritos em seguida são experiências do laboratório que foram aprovados sistemàticamente e aplicados com resultados satisfatórios nos laboratórios do Instituto Zoológico da Universidade de Bonn (Alemanha) e do Instituto Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro (Brasil). No correr do tempo as diferentes manipulações foram limitadas no seu tempo de duração que os valores indicados representem sempre o mínimo. No emprego destes métodos deve-se proceder com a maior exatidão observando fielmente as prescrições. É de máxima importância de utilisar-se de substâncias puríssimas, controlar as combinações como também observar constantemente as diversas manipulações como fixação, deshidratação e coloração. Trata-se em parte de métodos novos, em parte de modificações de antigos métodos ou de outros que são empregados em grupos de outros animais e mostravam-se aproveitáveis com certas modificações também para insetos.

Os diversos métodos, prescrições e indicações são resumidos em diversos grupos, mesmo obedecendo a uma enumeração contínua podendo assim esta ser aumentada mais tarde se isto for necessário. Desta maneira uma boa orientação em forma de índice é conseguida como Romeis empregou a na sua excelente obra sôbre a microscopia técnica.

II. Prescrições da preparação.

1. Quando trata-se de material para coleções ou de investigações das partes quitinosas no sentido mais amplo bastam para sacrificar os insetos os gáses de éter, clorofórmio, ciancali, eventualmente benzol entre outros. Êstes meios causam uma contração dos músculos que pode ser prejudicial nos insetos membranosos (larvas, apterigotas etc.).

2. Como estes meios (principalmente o clorofórmio) provocam uma deshidratação forte nas membranas intersegmentais, os insetos tornam-se frágeis o que dificulta a sua montagem. Neste caso é preferível de empregar éter acético, pois estas desvantagens diminuem assim devido do ácido acético livre.

3. Nos trabalhos histológicos torna-se freqüentemente necessário um descanso da musculatura para conseguir as medidas e estruturas naturais. A atonia desejada pode ser conseguida antes da fixação com uma lavagem do inseto com extrato de "kava-kava" no que deve-se observar que o líquido injetado sai normalmente se não podem surgir dilatações devido a pressão aumentada:

a) narcose do inseto com éter ou outros meios,
b) injetar imediatamente o extrato de "kava-kava" cuja ação deve ser de 10 a 15 minutos,
c) injetar em seguida o fixador,
d) prosseguimento segundo os métodos de fixação abaixo descritos.

Solução: 1. Extrato de kava-kava": Misturar 125 cm^3 soluto isotônico de 80° com 7,5 g de pó de "kava-kava". Depois de resfriar até 37° adicionar uma pequena porção de diastase (dissolvido no mesmo soluto). Deixar permanecer 2,5 horas a 37° e filtrar. O extrato não poderá ser conservado por muito tempo. 2. Soluto isotônico: 7,5 g NaCl, 0,42 g KCl, 0,21 g $CaCl_2$ 1 000 cm^3 H_2O (dist.). O $CaCl_2$ deverá ser adicionado sòmente depois da dissolução dos outros sais para evitar a formação de carbonato de cálcio insolúvel. O soluto não poderá ser conservado durante muito tempo.

4. No caso se for impossível a lavagem do inseto, poderá o mesmo, narcotisado e aberto, ser colocado durante 15 minutos num extrato de "kava-kava".

5. No caso que não for empregado o extrato de "kava-kava" o inseto sacrificado com éter, clorofórmio etc. deve descançar um pouco antes da fixação (10 minutos os insetos menores e 20 minutos os maiores) até diminuir a contração inicial. Será fácil de dobrar as extremidades. Em seguida fixação.

6. Exame da superfície. Um exame direto com binocular ou "ultropak" ou com luz transparente é muitas vêzes impraticável por causa do brilho ou da coloração etc. Neste caso o preparo de réplicas é necessário. Aplica-se na superfície cuidadosamente limpa uma camada fina de um soluto de celulose, de colofónio ou colódio. 5 a 10 minutos após esta camada secou ela pode ser deslocada fàcilmente. Esta réplica representa uma reprodução fiel da superfície que pode ser analisada no microscópio. Esta reprodução torna-se mais plástica quando projetamos em seguida em alto vácuo e com ângulo bem agudo vapores metálicos (shadow-casting).

Solução: Dissolve-se celulose no meio como clorofórmio, éter ou acetona diluindo a depois tanto que poderá atingir todas as cavidades e sulcos. A celulose deve ser absolutamente limpa e o meio de solução não poderá conter restos de água senão a réplica apresenta-se turva.

7. Deslocação de escamas e cerdas. No caso que a superfície das partes quitinosas estiver cheia de escamas, um deslocamento com pincel ou pinca destrói freqüentemente estruturas finas. Neste caso aplica-se um soluto viscoso de celulose. Uma vez sêco o negativo é retirado cuidadosamente deslocando-se assim as escamas e cerdas (eventualmente uma segunda aplicação). Desta forma pode-se tirar as escamas totalmente das asas de lepidópteros delicadas e finas. Recomenda-se de empregar acetona devido a sua rápida evaporação separando e enrolando-se 5 a 15 minutos depois por si os negativos. Nas asas, principalmente nas margens, deve-se tratar subseqüentemente apenas pequenas partes para evitar destruições.

Solução: Preparo da solução de celulose como sob n.º 6.

8. Formas dos excrementos dos insetos. Para a demonstração das formas pelas dobras rectais são as mesmas, para obter preparações permanentes, tratadas como segue:

a) secadas no banho maria ou na estufa,
b) colocadas em benzol durante 30 minutos a 2 horas de acôrdo com o tamanho,
c) transferidas para acetona durante 20 a 40 minutos,
d) deitadas durante um dia numa solução, bem líquida de celulose (com uma consistência de glicerina),
e) secadas numa placa de vidro. Deve-se prestar atenção que não encontram-se gotas da solução de celulose em baixo do preparado. No caso que a solução foi densa demais de forma que ela passa sôbre a parte externa, devem as formas ser lavadas ràpidamente com acetona pura antes de secar.

Solução: Preparação da solução de celulose como sob n.º 6.

9. Coloração dos anexos. No exame de escamas, cerdas e outros anexos é freqüentemente indicada uma coloração quando é impossível entrar insuficientemente na estrutura mais fina com outros meios óticos (luz polarisada, microscópio contraste de fase). Neste caso prepara-se a coloração dos anexos in sito junto com a sua base.

10. Com o objeto in vivo o mesmo deve ser deshidratado até o álcool de 96%.

a) desengordurar mergulhando o várias vêzes em éter,
b) álcool de 40% durante 20 minutos,
c) álcool de 70% durante 20 minutos,
d) álcool de 96% durante 20 minutos,
e) soluto de vermelho de congo durante 24 horas,
f) álcool de 96% (diferenciar),
g) álcool de 100% durante 1 hora (duas vêzes),
h) xilol durante uma hora (duas vêzes),
i) secar ao ar (para apressar na estufa com 58°),
k) deslocamento dos anexos e montagem no ar sêco sob a lamínula, mantida se fôr necessário por fios de vidro. Depois da observação no estado sêco pode ser incluído em bálsamo de canada,
l) passar éter entre lâmina e e lamínula para exclusão de ar,
m) passagem com xilol até substituir o éter por xilol,
n) passagem com bálsamo bem líquido, que eventualmente depois, após da evaporação do xilol, poderá ser substituído.

Solução: Uma g de vermelho de congo dissolve-se em 100 cm^3 de álcool de 96% sacudindo repetidamente, filtração 24 horas depois. O soluto é estável. Se a concentração aumentar devido a evaporação do álcool deverá ser reposta a quantidade anterior com álcool de 96%.

11. Quando o objeto é sêco pelo ar, deverá ser deitado em álcool:

a) éter para a expulsão do ar,
b) álcool ou benzol durante 5 minutos,
c) álcool de 100% durante 10 minutos,
d) álcool de 96% durante 10 minutos,
e) prosseguir como acima sob n.º 10 e.

12. No caso que é desejado de incluir o objeto logo em bálsamo de canada os anexos devem ser separados em xilol e colocados em bálsamo de canada.

13. Preparações inteiras de pequenos insetos. Inclusão de objetos não deshidratados: meio de inclusão é glicerina pura (n = 1,456). O objeto deverá ser desengordurado antes com éter.

a) colocar em H_2O (dist.),
b) retirada da água com papel de filtro,
c) deitar uma gota de glicerina evitando a formação de bolas de ar. Deve-se observar que o inseto deverá ficar no éter antes de deitá-lo em H_2O até que o ar tenha saído das traquéias.
d) colocação da lamínula que deverá ser suficientemente apoiada nos seus lados por pequenas colunas de cêra ou melhor ainda por fios ou cacos de vidro dando assim uma posição horizontal. Glicerina é higroscópico. Quando tratar-se de preparação permanente a lamínula deverá ser fechada posteriormente nas suas extremidades (veja n.º 17 e 18).

14. Para evitar irregularidades na passagem para glicerina, passa-se insetos delgados (larvas, apterigotas etc.) Através de mistura de água-glicerina para glicerina pura:

a) H_2O (distilada),
b) 5 partes de H_2O e 1 parte de glicerina,
c) 3 partes de H_2O e 1 parte de glicerina,
d) 1 parte de H_2O e 1 parte de glicerina,
e) glicerina pura.

(Duração do tratamento de cada passagem 10 a 30 minutos conforme o tamanho do objeto).

15. Nos casos de insetos delgados recomenda-se freqüentemente uma anterior coloração total fraca:

a) desengordurar em éter,
b) colocação em H_2O (dist.),

c) colocação no soluto de coloração: (1.) vermelho neutro (0,1%) em H_20 (dist.) ou (2.) azul de metilena (0,1%) em H_20 (dist.), duração cada vez uma hora.
d) lavagem em H_20 (dist.),
e) si houve excesso de coloração, a côr pode ser retirada com álcool de 70%,
f) continuação como sob n.º 14 a.

Pode-se empregar também hemalumen:

a) da água para hemalumen (veja n.º 117) 2 a 3 horas,
b) lavagem em H_20 (corr.) 30 minutos a 1 hora,
c) excesso de coloração pode ser diminuído por ácido clorídrico (0,1% em H_2O),
d) neutralisar em bicarbonato de sódio ($NaHC0_3$) (5% em H_20) 2 a 3 minutos,
e) lavagem em água corrente 30 minutos a 1 hora,
f) continuação como sob n.º 14a. No caso se desejar inclusão em bálsamo de canada continuação através da série crescente de álcool (veja n.º 83 e 86).

16. Em vez de glicerina pode-se empregar xarope aborrachada segundo v. Apáthy (n = 1,524): em 50 cm^3 H_20 (dist.) são dissolvidos 50 g de goma arábica (pedacinhos) e 50 g de açúcar de cana no banho maria. Depois adiciona-se 1% de formol. A massa endurece ràpidamente podendo ser liquidificada por calor.

17. Fechamento: O melhor método para pequenos objetos é o de Zeller recomendado por Romeis:

a) O preparado é colocado numa pequena lamínula e coberto com o meio de inclusão (ou glicerina ou água),
b) vira-se a lamínula colocando a numa segunda mas maior lamínula devendo o espaço entre ambas ser preenchido pelo meio de inclusão não podendo sobrar glicerina nas margens. Se isto acontecer, deve ser retirado com papel de filtro,
c) vira as duas lamínulas ficando a menor por baixo,
d) algumas gotas de bálsamo de canada numa lâmina e espalhar numa área um pouco menor do que a da lâmina maior porém bem maior do que a da lamínula menor,
e) colocação das lamínulas na lâmina, se possível horizontalmente assim que todas as partes tenham contato simultâneamente.

18. Fechamento de objetos maiores, isto é a distância entre lamínula e lâmina é grande: gelatina bicromada de potássio seguindo Ruijter (1934). Num soluto quente de 38º com 20 g de gelatina em 100 cm^3 água timolada saturada misturam-se 10 cm^3 de um soluto de bicromado de potássio. O soluto endurece no escuro como gêlo. Para o uso liquidifica-se pouco desta massa a 37º fechando a lamínula com

isto cuidadosamente com um pincel. Em seguida deixa-se secar em temperatura ambiente em luz (!). Por efeito da luz a massa torna-se indissolúvel.

19. Inclusão e clarificação de pequenos insetos como preparados totais. O inseto morto ou também material sêco é aquecido segundo Costa Lima em hidróxido de potássio (KOH) a 10% ou em hidróxido de sódio (NaOH) em banho maria. No caso de pequenos insetos, para evitar destruições de membranas intersegmentais finas aquece-se paulatinamente a 80° (eventualmente pode-se reduzir o hidróxido a 5%), em insetos maiores até a fervura. Depois ter sido atingido o grau desejado do amolecimento e clarificação com uma distruição das partes internas não quitinisadas deixa-se refrescar passando através da série de álcool e xilol para o bálsamo de canada.

20. Se desejar uma coloração a quitina pode ser tingida com vermelho de congo (veja sob n.° 10) em álcool de 96%. Como diversas partes quitinosas aceitam mais ràpidamente orange do que vermelho de congo, pode-se conseguir em certos casos uma coloração de contraste com a mistura do vermelho de congo — orange GG (veja sob n.° 132).

21. Maceração de insetos maiores. Recomenda-se de juntar ao hidróxido de potássio usado sob n.° 19 uma adição de 1% de hidrato de clorídrico. Se depois de aquecimento a clarificação for insuficiente, pode-se clarificar com perhidrol diluído. Diluição de perhidrol (H_2O_2) com água até 3 a 10% conforme o tamanho dos pigmentos. A clarificação pode extender-se sôbre vários dias. Com permanência mais demorada nesta mistura começa o processo macerizante.

22. Branqueamento de pigmentos (veja-se também n.° 19, 21 e 23): Tamanho do objeto 3 mm.

a) colocação no soluto de branqueamento controlando até conseguir o grau desejado,
b) neutralisação em ácido acético de 1%, 10 a 30 minutos,
c) água corrente durante 30 minutos,
d) lavagem em H_2O (dist.) durante 30 minutos,
e) série de álcool até xilol e bálsamo de canada.

Solução: Líquido de branqueamento: Soluto de perhidrol a 3% e KOH a 0,5% em H_2O (dist.), no caso se desejar coloração posterior emprega-se em vez de KOH fosfato de sódio a 1% (Na_2HPO_4).

23. Branqueamento com diafanol e amolecimento simultâneo da quitina: Como tratamento com diafanol (ácido acético com dióxido de cloro) freqüentemente tem por conseqüência uma destruição mais ou menos forte dos tecidos, recomenda-se o emprêgo de ácido nítrico com dióxido de cloro que trabalha mais brandamente.

Emprêgo :

a) depois da fixação leva-se o objeto até ao álcool de 96% e depois para o álcool de 65%,
b) colocação em ácido nítrico com dióxido de cloro no escuro até a decoloração dos pigmentos respectivamente amolecimento da quitina (podendo o processo demorar algumas semanas). No caso se o soluto ficar claro deve ser substituído por um novo,
c) passagem para uma mistura de tiosulfato de sódio a 2,5% e soluto de nitrato de sódio a 5% (em H_20) durante 24 horas (mudar algumas vêzes),
d) lavagem em H_20 corrente durante 3 horas,
e) série com álcool até xilol.

Solução: preparo do ácido nítrico com dióxido de cloro: pouco antes do uso são misturadas 10 partes de um soluto aquoso de dióxido de cloro com uma parte de ácido nítrico oficinal (25%, peso específico 1,145 a 1,148, correspondendo a 18,5° Bé).

Dióxido de cloro prepara-se conforme Moller:

a) num vidro graduado de 2 000 cm^3 que pode ser fechado colocam-se 220 cm^3 H_20 (dist.),
b) num vidro graduado de 100 cm^3 colocam-se 12 cm^3 H_20 (dist.) juntando devagar e mexendo 44 cm^3 de H_2S0_4 concentrado,
c) deixar resfriar,
d) juntam-se a b) 12 g de clorato de potássio ($KCl0_3$), cuidado explosível!,
e) o pequeno vidro aberto é colocado no grande e todo fechado bem com óleo de parafina e conservado no escuro durante 24 a 36 horas,
f) o $Cl0_2$ que aparece no pequeno vidro foi diluído na água do grande vidro. A côr deste soluto de dióxido de cloro é de côr amarela de ouro forte, conservação num frasco com rolha esmeril no escuro.

24. Clarificação (método de Spalteholz): Neste método recomenda-se especialmente o emprêgo de baixa pressão.

a) fixação em formol, álcool, Carnoy etc., possìvelmente não em fixadores com ácido ósmico ou sublimados. Uma fixação suficiente é a base de um resultado bom sendo que excesso de fixação nem prejudica. O melhor é o líquido de Carnoy.
b) lavagem em H_20 (dist.),

c) branqueamento em H_2O_2 de 5% a 20% conforme o tamanho dos pigmentos. O H_2O_2 deve ser neutralisado com $LiCO_3$, NaOH ou NH_3. Branquear até a distruição dos pigmentos. Se o resultado for insuficiente pode ser branqueado com diafanol,
d) lavagem, desidratação (com cuidado) até o benzol puro,
e) líquido de clarificação segundo Spalteholz, duração conforme do tamanho das peças. O processo deve ser controlado diàriamente podendo ser apressado numa estufa de 40° a 45°.

Solução: Óleo de Wintergreen (salicilato de metila) e benzoato de benzila na proporção de 4 a 1. É recomendável uma coloração simultânea fraca e total de pequenos objetos delicados. Para uso adiciona-se ao álcool de 70% e 1 cm^3 de um soluto de 1% de azul de toluidina por 100 cm^3 de álcool. O objeto fica durante 24 horas nêsse soluto. O álcool de 96% subseqüente é substituído por um soluto de 1% de vermelho de congo em álcool de 96%.

25. Clarificação. Bons resultados observam-se também quando emprega-se em vez do soluto de clarificação conforme Spalteholz em n.° 24 e) uma mistura de partes iguais de óleo de anilina, óleo de cravo e terpinol.

26. Líquidos de conservação para manutenção de côres naturais:

Os métodos usuais para a conservação de material para os museos podem ser empregados também em certos sentidos para os insetos. Indicados para lagartas, pupas etc., também para aranhas. Antes de colocar os objetos no líquido de preparação êstes devem ser desengordurados em éter. O ar contido nêstes extrai-se com vantagem pela bomba de jato de água apressando-se e intensivando-se ao mesmo tempo a infiltração. Recomenda-se também na infiltração com o líquido de conservação o emprêgo de baixa pressão.

Método segundo Klotz:
Líquido de preparação:
Em 200 cm^3 de H_2O (dist.):

acetona	3 cm^3
cloralidrato	4 g
formol (40%)	6 cm^3
bicarbonato de sódio	1 g
clorato de sódio	1 g

Nêste líquido objetos menores ficam 10 dias, maiores 15 dias. O líquido não deve ser menos do que 20 vêzes o volume dos objetos.
Líquido de conservação:
em 200 cm^3 H_2O (dist.):

acetona	3 cm^3
cloralidrato	2 g
formol (40%)	1,5 cm^3
bicarbonato de sódio	1 g
clorato de sódio	1,5 g

Método conforme JORRES:
(veja também a referência inicial ao método anterior).

Líquido de preparação:
em 200 cm^3 H_2O (dist.):

sal de Carlsbad (artificial)	6,25 g
cloralidrato.....	6,25 g
formol (40%)	6,25 g

Nêsse soluto ficam peças menores durante dois dias, maiores até 8 dias. Depois lavagem em H_2O (corrente) durante 12 horas ou mais e passagem para o:

Líquido de conservação:

em 200 cm^3 H_2O (dist.)

açúcar de cana	62,5 g
acetato de potássio	4 g
sulfato de potássio	2 g

Composição de sal de Carlsbad (artificial) é a seguinte:

sulfato de sódio	11 g
bicarbonato de sódio	10 g
clorato de sódio	9 g
acetato de potássio	19 g
sulfato de potássio	1 g

27. Dissecação de um inseto: A dissecação de um inseto, principalmente de um menor exige muitas horas ou até dias. Quando estiver com pressa nem vale a pena de começar, pois não chegará a um resultado. Anexo a que atrapalham e as massas das extremidades serão separados dentro das possibilidades. Segue a abertura do organismo que nunca deverá ser feita por um corte ventral, pois destrói o sistema nervoso. A abertura deve ser feita segundo a finalidade por um corte longitudinal da linha dorsal ou de uma das linhas laterais. Por exemplo numa largata o corte vai até a cápsula craniana, no inseto adulto até o metatorax e daqui na membrana intersegmental entre torax e abdomen até as linhas laterais num corte dorsal, até a outra linha lateral num corte lateral. Freqüentemente deve-se fazer um corte através de ambas as linhas laterais (principalmente em coleópteros e heterópteros). A retirada da placa dorsal é feita cuidadosamente em água (ou em soluto isotónico quando os objetos devem ser posteriormente examinados histològicamente). Para isto segura-se o inseto numa placa de dissecação com alfinetes de aço inoxidável de forma que os alfinetes não perturbam a dissecação.

28. Preparo de placas de preparação. É melhor trabalhar com uma placa metálica laqueada de côr preta ou uma tal de metal ino-

xidável com margens inclinadas (base 10 por 15 centímetros, profundidade 7 centímetros, sendo que as margens medem nas suas extremidades 20 respectivamente 25 cm). No fundo das placas coloca-se turfa de 2 cm de grossura cobrindo tanto com parafina a qual juntou-se um soluto de borracha natural a 10% até a imbibição da turfa deixando-se formar ainda por cima uma camada de 1 cm de parafina (em banho maria). Quando formam-se bolhas de ar deve-se aquecer mais algumas vêzes.

Soluto: Soluto de borracha: borracha natural não vulcanisada é partida e tanto do mesmo dissolvido em clorofórmio até o soluto ainda passa pelo filtro. O filtrado é adicionado na porcentagem descrita à parafina líquida e a mistura aquecida numa placa ampla em banho maria até o desaparecimento do cheiro de clorofórmio. A parafina é de uma côr amarela-marrom (para o preparo de placas de preparação pode utilisar-se de parafina não purificada).

29. Dentro das possibilidades separa-se os órgãos internos retirando as partes maiores e não necessárias como traquéias ou corpos gorduroros sem prejudicar os outros órgãos. Em seguida simultâneamente a fixação e a coloração. De acôrdo com a finalidade o líquido compõe-se de diversos componentes:

30. Como soluto-mãe emprega-se 80 cm^3 álcool de 60% com 10 cm^3 de formol.

31. Adiciona-se 5 cm^3 de vermelho neutro (1% em H_2O) e 2 cm^3 de azul de metilena (1% em H_2O) ou 1 cm^3 de verde brilhante (1% em H_2O). Duração de 20 a 30 minutos. Os preparados com coloração excessiva são diferenciados com álcool de 96%. Êsse método serve para preparados inteiros.

32. Para preparação de partes finas dos órgãos é mais apropriado a seguinte composição: ela trabalha mais devagar proporcionando uma coloração mais uniforme de todos os órgãos também dos mais profundos: 90 cm^3 de álcool de 60%, 5 cm^3 de formol, 1 cm^3 de vermelho neutro (0,5% em H_2O) 1 cm^3 de azul de metilena (0,5% em H_2O) ou 1 cm^3 verde brilhante (0,5% em H_2O). Duração de 1 a 2 dias diferenciando em seguida em álcool de 40%.

33. Para a coloração específica dos corpos gordurosos o objeto dissecado é molhado com um soluto saturado de sudan III em álcool a 70%.

34. Para a coloração especializada dos músculos lança-se mão de uma adição de 5% de orange GG (soluto saturado em H_2O) à soluto-mãe.

III. Fixação.

35. Gerais: sôbre os princípios da fixação partindo dos diversos pontos de vista veja Zeiger (1938), Werner (1934-1937) e Seki (1937).

36. Para fins histológicos e citológicos nunca é suficiente uma única fixação mas sim devem-se empregar métodos diversos pois as misturas diferentes apresentam as estruturas plasmáticas mais finas em forma variada. É necessária uma fixação perfeita e exata pois ela é a base para a posterior coloração.

37. Falhas, principalmente insuficiente capacidade da coloração causada pelo emprêgo de meios de fixação não propriados podem ser diminuídas em certos casos por uma refixação.

38. Freqüentemente empregam-se misturas de líquidos como fixadores, raramente líquidos isolados.

39. As misturas seguintes de líquidos aprovaram para insetos:

apropriadas para:	líquido segundo:
aspetos gerais	Carnoy, Bouin, Gilson, Susa de Heidenhain, Zenker
núcleos	Carnoy, Bouin, Flemming, Gilson
citoplasma	Carnoy, Bouin, Flemming
estruturas fibrilosas	Susa de Heidenhain
nervos	Mueller, Burke, Orth
gorduras e óleos	Flemming
esfregaços	vapores de ácido ósmico puro, Susa de Heidenhain
quitina	Carnoy, Bouin, Gilson, P. Mayer
ovos e embriões	Petrunkewitsch

40. Execução e prática da fixação: o inseto morto deve ser desengordurado externamente antes da fixação pois freqüentemente as gorduras e ceras aderentes dificultam a penetração dos líquidos. Para isto mergulha-se o inseto algumas vêzes ràpidamente em éter. Ao mesmo tempo o éter elimina o ar aderente e uma parte do ar nas traquéias. O inseto ainda úmido pelo éter é colocado no líquido da fixação.

41. Como durante a fixação juntam-se líquidos pesados no fundo da placa, leves na superfície do fixador, deve-se deitar o objeto ou num pedaço de algodão ou de gaze ou ser pendurado na parte central do vidro. Interessante são tubinhos de vidro de larguras várias fechadas numa extremidade com gaze de uma tela de diâmetro grosso. Na outra extremidade puxa-se uma alça de vidro. Dêste modo o líquido pode sair e o fixador tem livre entrada ao objeto por todos os lados. Ao mesmo tempo é facilitado a passagem para outros líquidos. Du-

rante esta passagem deve-se prestar atenção que quanto menos possível entrem restos do primeiro líquido no segundo.

42. No caso de insetos maiores deve-se retirar o objeto depois de certo tempo para cortar-lo para que o fixador possa entrar com mais rapidez e maior uniformidade. Deve-se evitar de cortar o objeto antes da fixação pois podia perder-se órgãos ou partes de órgãos ou provocar deslocamentos. Sòmente depois de uma fixação superficial pode-se proceder ao corte sem preocupações. Evita-se trabalhar com tesouras, para evitar contusões, trabalha-se com lâminas de gilete.

43. Para a fixação de insetos inteiros de mais de 1 cm de comprimento recomenda-se uma injeção com o fixador. Para não rasgar as partes deve-se injetar só tanto líquido até que as membranas segmentais começam esticar-se. Quando se providencia pela saída do líquido, pode-se lavar a cavidade abdominal.

44. A injeção deve ser feito devagar para dar tempo à musculatura de turgor desceder à nova pressão paulatinamente.

45. No caso que se desejar fixar um grande inseto como inteiro e não está indicado uma injeção, é melhor de empregar como fixador sòmente um líquido não uma mistura. No caso de misturas freqüentemente um componente avança consideràvelmente assim que na parte interna êste componente, nas partes externas aquêle produz efeito. Por exemplo na fixação com líquido de Flemming a parte interna de um objeto maior é fixado principalmente pelo ácido acético, as partes externas porém mais pelo tetróxido de ósmio que defunde-se mais devagar.

46. Os fixadores não devem ser utilisados em demasia mas devem ser renovados freqüentemente. Isto deve ser observado principalmente em misturas nas quais entram componentes fàcilmente voláteis pois pela evaporação é alterada a proporção da mistura.

47. A proporção do tamanho do objeto para a quantidade do líquido não deve ser inferior a 1 : 10 (no líquido de Flemming a 1 : 5). Recomenda-se de movimentar várias vêzes os objetos para que o líquido possa atingi-los uniformemente devendo-se evitar de mexer com as matérias saídas dos objetos que se juntam no fundo do vidro.

48. Fixação por gáses: Para pequenos objetos como conteúdo intestinal, membranas, esfregaços, partes finas de tecidos etc. podem ser impregados gáses de ácido ósmico (tetróxideo de ósmio, OsO_2), formaldehide ou iôdo. A fixação procede-se ràpidamente não porém devendo ser recomendado para todas as finalidades histológicas. Serve porém para preparados em geral e em investigações microanatómicas.

49. Fixação com gáses do ácido ósmico. Recomenda-se principalmente para a prova de gorduras, óleos, cêra etc. que são escurici-

dos pelo OsO_4. As modificações da forma são mínimas. Emprega-se um soluto de 1% a 2% em água ou em ácido crômico. Os preparados recentes são deitados pendurando por baixo da lâmina, esfregaços com a prate superior para baixo, numa pequena placa de vidro com $0s0_4$ assim que o objeto fica quase 1 cm por cima do líquido (bastam poucas gotas). A placa deve ser fechada evtl. por meio de outras lâminas várias. O efeito dos gáses para os esfregaços e outros preparados finos durante 1 a 2 minutos, para preparados mais grossos durante 1 a 2 horas. Cuidado: os gáses são tóxicos.

Soluto: Preparo do soluto do $0s0_4$: para evitar a redução do ácido ósmico por impurezas de partes orgânicas deve-se evitar no preparo do soluto dos cristais poeira ou qualquer impureza. Melhor do que em H_20 (dist.) conserva-se $0s0_4$ num soluto de ácido crômico a 0,1% (Romeis): 0,1 g de ácido crômico em 100 cm^3 H_20, depois da solução juntar 1 ou 2 g (1% ou 2%) OsO_4: A ampola bem limpa, na qual é vendida o $0s0_4$, é aberta na parte central e deitado então com os cristais no ácido crômico. A dissolução exige algumas horas.

50. Fixação com vapores de iôdo: Num tubo de vidro aquece-se alguns pequenos cristais de iôdo até que o vidro enche-se com vapores de iôdo (vapor de iôdo é mais pesado do que o ar e de côr marrom). Os vapores deixam-se deitar sôbre o objeto colocado numa placa. Tempo de ação 2 a 3 minutos. Em seguida o objeto deve ser aquecido durante 2 a 3 minutos a 40° para dispersar o iôdo livre.

51. Fixação com gáses de formaldehide (soluto de quase 40% de vapores de formaldehide em H_20 = formol): um pedaço de papel de filtro molhado com formaldehide puro deita-se junto com o objeto numa placa de vidro fechada. Os vapores necessitam uma meia até uma hora para a fixação. O tempo pode ser reduzido a um têrço quando realiza-se a fixação no dessecador aquecido na estufa a 60%.

52. Álcool. Se não se trata de outra forma, trata-se no seguinte de álcool etílico puro.

53. Álcool age por desidratação fortemente diminuindo, dissolve gorduras, materias graxas, numerosas secreções, celesterina e substância cromafina. Quìmicamente êle é indiferente, fixando o que se consegue fracamente ou não com outros líquidos, entre outros ácido úrico, glicogênio, ferro, cálcio e mucina. Reduz-se fortemente plasma e núcleo da mesma forma porém menos. A capacidade de coloração é boa para quase todos os métodos, a capacidade de cortar é reduzida.

54. Aplicação: Objetos com uma grossura não superior a 5 mm. Se possível deve-se separar antes as partes quitinosas e músculos pois êstes ressecam pela desidratação. Objetos fixados podem ser conservados em álcool a 80%. Com mais eficiência e maior rapidez do que o álcool absoluto penetra o álcool comum que sempre tem 1% a 2%,

freqüentemente a 3% H_2O, os tecidos. Duração da fixação de objetos pequenos e insetos cortados de 2 a 3 horas, fora disto 4 a 5 horas.

55. Sublimado: isoladamente tem uma ação de diminuição sôbre plasma, menos sôbre o núcleo. Principalmente indicado para fixação de albuminas. Os lipóides etc. são dissolvidos. Sublimado penetra ràpidamente reduzindo-se porém a entrada devido aos produtos de fixação que surgem. Emprega-se para diminuir esta redução não o soluto aquoso de saturação completa mas sim a da saturação para metade. Duração em pequenos objetos e insetos cortados de 3 a 4 horas, fora disto 6 a 8 horas.

Soluto: soluto saturado em H_2O: 200 cm^3 H_2O (dist.) são fervidos num balão de 1 ltr. depois de apagado o fogo adiciona-se devagar 15 g de sublimado (cloreto de mercúrio) mexendo várias vêzes durante o processo de resfriamento. O H_2O deve ser puro. Para a fixação é diluído para a metade com H_2O (dist.).

56. Formol. O formol comercial corresponde a um soluto de 40% do gás de formaldehide em H_2O. Êste formol comercial tem reação sempre ácida (ácido fórmico), e assim êle deve ser neutralisado para determinados métodos se e impossível de comprar um produto estandardizado. Deve ser protegido da luz.

57. Neutralisação do formol: num vidro escuro adiciona-se ao formol carbonato de cálcio em pó agitando-se o freqüentemente e conservando o com carbonato. p_H quase 6,5.

58. Formol penetra ràpidamente os tecidos, endurece relativamente pouco, a diminuição é de quase 5 a 8% atingindo porém no tratamento seguinte 25%. Certas gorduras e lipóides bem como nervos são muito bem fixados. O formol não presta-se para a fixação de nâcleos, ácido úrico, glicogênio e guanina.

59. Diluição do formol: para evitar erros são indicados no seguinte as partes de água e de formol e o conteúdo procentual do formol: por exemplo formol (40%) 1 : 3 = 1 parte de formol a 40% em 3 partes de água. Para evitar a reação ligeiramente ácida emprega-se para a diluição sempre água corrente.

60. Refixação depois da fixação com formol puro é praticável com as misturas usuais.

61. Depósitos de formol que podem-se formar podem ser desmanchados colocando os cortes num soluto de 2,5% amoníaco (NH_4OH) em álcool a 70%.

62. Na combinação com outros líquidos o formol sòmente pode ser adicionado antes do uso para evitar decomposições.

63. Ácido acético: emprega-se sòmente em casos especiais. Dissolve parcialmente o plasma e produz imbibições fixando porém muito bem os núcleos empregando um soluto de 1% em H_2O. Duração de 1 a 2 horas em objetos maiores até 4 horas.

64. Sob ácido acético atende-se a solução de 96% em H_2O, sob ácido acético glacial o ácido de 100%.

65. Depois da fixação com ácido acético os preparados devem ser colocados imediatamente em álcool de 96% para evitar dilatações.

66. Ácido ósmic: por causa da sua rapidez difusora reduzida o OsO_4 isolado é empregado raras vêzes. Como o OsO_4 é reduzido fàcilmente por substâncias orgânicas Romeis recomenda um soluto de ácido crómico de 0,1% (veja n.º 49). Êste soluto conserva-se quando bem fechado (sòmente vidro de Pyrex ou de Jena).

67. OsO_4 fixa muito bem as estruturas celulares, a diminuição é pouca. Gordura e lipóides são estabilizados e tingidos de marrom a prêto.

68. Para esfregaços e membranas recomenda-se mais os gáses (veja n.º 49).

69. Preparo do soluto veja n.º 49.

70. As gorduras escurecidas podem ser clarificadas com permanganato de potássio, ácido oxálico ou água oxigenada.

71. Álcool-ácido acético glacial: 20 cm^3 de ácido acético glacial em 100 cm^3 de álcool absoluto. Penetra mais ràpidamente do que o álcool. A diminuição é um pouco menor do que com álcool isolado. Como desvantagem surge uma dissolução parcial das estruturas plasmáticas podendo empregado assim só em casos isolados. Duração de 2 a 5 horas conforme o tamanho do objeto. Em seguida lavar em álcool absoluto durante 20 a 30 minutos.

72. Mistura de Carnoy. Composição: 6 partes de álcool absoluto, 3 partes de clorofórmio, 1 parte de ácido acético glacial. Não há necessidade de desengordurar os objetos anteriormente pois o clorofórmio dissolve as gorduras. Duração de 1 a 2 horas, objetos maiores até 5 horas. Permanência maior em "Carnoy" prejudica de forma que substâncias grodurosas são extraídas com mais freqüência e as estruturas fibrilosas são imbibidas principalmente quando pelo evaporação do clorofórmio e do álcool aumenta a percentagem do ácido acético. O soluto deve ser preparado cada vez novamente, pois pela evaporação alteram-se ràpidamente as concentrações. Logo depois da fixação lavar em álcool a 96% (mudar duas vêzes principalmente antes da coloração com hematoxilinas).

73. Mistura de Orth: principalmente para fixação da substância nervosa. Composição: 2,5 g bicromato de potássio em 100 cm^3 H_2O como soluto mãe a qual adiciona-se imediatamente antes do uso 10 cm^3 de formol. Fixação no escuro durante 24 a 48 horas. Depois lavar em H_2O (corr.) durante 24 horas deshidratar sob benzol. Depósitos dos líquidos que contém cromo são eliminados pela colocação antes da desidratação em ácido crômico de 0,5%.

74. Líquido de Flemming: composição: soluto-mãe: 0,5 g OsO_4 são dissolvidas em 120 cm^3 de um ácido crômico de 0,1%. A 19 cm^3 dêste soluto junta-se antes do uso 1 cm^3 de ácido acético glacial. O soluto penetra devagar podendo ser fixadas sòmente peças pequenas de uma grossura de 1 a 3 mm. Duração de 24 horas até alguns dias mesmo a permanência durante alguns meses não é desvantajosa. Em seguida lavar em água corrente durante 24 horas e desidratar sob benzol.

75. Líquido de Bouin: a mistura de Bouin penetra nos insetos sòmente devagar por falta de álcool. Melhor é a modificação Duboscq-Brasil (1905): Composição: 1 g de ácido pírcicro em 150 cm^3 de álcool a 80% adicionando-se a êsse soluto mãe antes do uso formol (40%) 60 cm^3 e ácido acético glacial 15 cm^3. Duração conforme o tamanho dos objetos de 2 a 24 horas. Permanência durante alguns dias nêste fixador não é desvantajosa. Lavagem diretamente em álcool a 80% que deve ser mudado algumas vêzes.

76. Ácido pírico — ácido nítrico segundo P. Mayer. Penetra ràpidamente apropriado principalmente para a investigação da quitina pois esta é desincrustada até um certo grau. Composição: 100 cm^3 H_2O, 5 cm^3 de ácido nítrico (HNO_3 de peso específico 1,153) e ácido pícrico (em substância) até a saturação. Depois de 24 horas filtrar. No caso que formar se mais depósito deve-se filtrar mais uma vez 24 a 48 horas após. O filtrado claro fixa pequenos insetos em 3 a 6 horas grandes em 12 horas. Lavagem direita em álcool a 70%.

77. Líquido de Gilson: penetra ràpidamente e fixa uniformemente. Composição: sublimado 20 g, álcool a 60% 100 cm^3, H_2O (dist.) 880 cm^3, ácido nítrico (peso específico 1,456) 15 cm^3, ácido acético glacial 4 cm^3.

a) desengordurar o inseto morto,
b) fixação, duração de 1 a 3 horas, objetos maiores até 5 horas,
c) álcool a 70% com 5 a 6 gotas de um soluto de iôdo com iodato de potássio (para a eliminação dos depósitos de sublimado), eventualmente pode-se empregar também tintura alcoólica de iôdo,
d) série com álcool e benzol até parafina.

Os cortes devem ser tratados após de diluição da parafina em álcool a 70% mais uma vez durante 1 minuto com iôdo (veja em cima sob c)). Para a retirada do iôdo os cortes devem ser colocados durante 2 a 3 minutos num soluto de 0,25% de tiosulfato de sódio. Êste último soluto deve ser renovado correntemente.

Soluto de iôdo com jodato de potássio: 2 g de J_2 e 3 g KJ em 100 cm^3 de álcool a 90%. Tintura alcoólica de iôdo: 10 g de iôdo metálico em 100 cm^3 de álcool a 90%.

78. Líquido de Zenker: penetração relativamente rápida, objetos possìvelmente não maiores do que 5 cm. Composição: bicromato de potássio 3 g em 100 cm^3 H_20 (dist.) adicionando 5 g de sublimado. A êsse soluto-mãe junta-se antes do uso 5 cm^3 ácido acético glacial. Fixação durante 1 a 24 horas conforme o tamanho do objeto, lavagem em água corrente durante 24 horas e série com álcool com adição de iôdo em álcool a 70% (veja n.º 77 c). Os cortes devem ser tratados como na fixação segundo Gilson.

79. "Susa" segundo Heidenhain: êsse método descalcifica devido a adição de ácido tricloracético, recomendável para insetos com fortes incrustações. Composição: sublimado 4,5 g, cloreto de sódio (NaCl quìmicamente puro) 0,5 g, H_20 (dist.) 80 cm^3, ácido tricloracético 2 g, ácido acético glacial 4 cm^3, formol (40%) 20 cm^3.

a) fixação conforme o tamanho durante 1 a 24 horas,
b) álcool a 90% mudando 2 a 3 vêzes,
c) álcool a 70% com adição de iôdo (veja n.º 77),
d) deshidratar.

Tratamento posterior dos cortes como em n.º 77.

80. Líquido conforme Petrunkewitsch: presta-se como o líquido de Gilson para quitina, mas também para ovos e embriões. Composição: H_20 (dist.) 300 cm^3, álcool absoluto 200 cm^3, ácido acético glacial 90 cm^3, ácido nítrico (peso específico 1,456) 10 cm^3, sublimado até a saturação. Uso como sob n.º 77 devendo ser dobrado o tempo da fixação quando tratar-se de ovos e embriões, pupas e objetos semelhantes.

81. Para a fixação das substâncias dos nervos presta-se principalmente a mistura conforme Burke: composição: H_20 (dist.) 75 cm^3, formol (40%) 25 cm^3, piridina (pura) 5 cm^3. O líquido deve ser 20 vêzes mais do volume do objeto:

a) fixação durante 48 horas até algumas semanas, permanência maior não prejudica,
b) lavar em álcool a 90%,
c) desidratar.

IV. Desidratação.

82. Como nos insetos a substituição da água nos tecidos pelo álcool processa-se muito lentamente e raras vêzes completamente, não pode-se trabalhar com um método comum para tecidos moles o mais ou menos homogêneos. Pequenos restos de água (principalmente na quitina) influenciam a capacidade de cortar o objeto tanto que ficam apenas pedaços parciais. Êste perigo ainda é aumentado pelo álcool absoluto que (quando 100%) já após poucas horas absorveu tanta água do ar que uma desidratação completa não é mais possível. É um velho problema na histologia procurar de evitar o álcool absoluto o que foi resolvido por vários desvios (dioxan, benzoato de metila etc.). Para insetos ainda existiam dificuldades com os métodos recomendados referente a capacidade de cortar partes do endosceleto nas quais ainda permaneciam restos de água pois os líquidos intermediários não conseguiram tirar completamente o álcool com os restos de água.

83. O método atual com qual também podem ser cortados os insetos mais duros numa série ininterrupta, é o seguinte, que Kiesser (1929) também empregava para objetos botânicos em forma semelhante. Após da fixação em fixadores aquósos:

a) H_2O (dist.) durante 6 horas,
b) álcool a 40% durante 4 horas,
c) álcool a 60% durante 4 horas,
d) álcool a 70% durante 12 horas,
e) álcool a 80% durante 12 horas,
f) álcool a 96% (correspondendo ao álcool absoluto comercial) durante 24 horas,
g) álcool a 96% 3 partes e benzol 1 parte durante 12 horas,
h) álcool a 96% 1 parte e benzol 1 parte durante 12 horas,
i) álcool a 96% 1 parte e benzol 3 partes durante 12 horas,
k) álcool a 96% 7 partes e benzol 100 partes durante 24 horas,
l) benzol puro durante 6 horas,
m) benzol puro durante 12 horas,
n) soluto saturado de parafina (ponto de fusão 56° a 58°) em benzol puro durante 12 horas,
o) parafina pura, líquida na estufa de 60° a 61° durante 2 dias.

84. Os tempos indicados referem-se à insetos não cortados de 5 a 10 mm de comprimento e são tempos mínimos não podendo ser inferiores, mas sim superiores.

85. Após a fixação em líquidos com álcool começa-se com a série com álcool correspondente, p.e. após a fixação em líquido de Carnoy lavar direitamente em álcool a 98%.

86. Se não é intenção de cortar os preparados, basta a série pequena com álcool:

a) álcool a 40% durante 2 a 3 horas,
b) álcool a 70% durante 3 a 4 horas,
c) álcool a 96% durante 8 a 10 horas,
d) álcool absoluto (à qual adiciona-se para a desidratação alguns pedaços de sulfato de cobre queimado ($CuS0_4$) o que produz porém uma ligeira acidificação. A desidratação também nunca sai completa. Êste álcool deve ser mudado 1 ou 2 vêzes cada 12 horas,
e) xilol, muda 1 vez, cada 12 horas,
f) bálsamo de canada.

Os tempos referem-se aos insetos não cortados de 5 a 10 mm de comprimento .

87. Diluição de líquidos.

a) Conhecido é a diluição de a %, procura-se a de b %: à b partes da primeira adiciona-se (a — b) partes do meio de diluição para conseguir a partes da solução de b %.
b) conhecida é a diluição 1 : a, procura-se a de 1 : b: à a partes da primeira adciona-se (b — a) partes do meio de diluição para conseguir b partes da diluição de 1 : b.

88. Na desidratação deve-se prestar atenção que os objetos como na fixação (veja sob n.º 41) estejam colocados na parte central do líquido, pelo menos numa base de algodão de vidro, algodão ou gaze.

V. Inclusão.

89. Como meio de inclusão a parafina tem as maiores vantagens. Permita a grossura mínima do corte, facilita o corte de séries e penetra uniformemente no objeto.

90. O micrótomo de gêlo não aprovou em geral para os insetos prestando-se mais para partes de tecidos entre si ligadas.

91. A parafina geralmente usada em trabalhos histológicos com o ponto de fusão de 56° a 58° demonstra-se em muitos casos dura demais.

92. Atualmente emprega-se com ótimo resultado uma parafina aborrachada: A 95 partes de paarfina com ponto de fusão de 56° a 58° adiciona-se em estado líquido 5 partes de um soluto aborrachado conforme foi descrita sob n.º 28.

93. Os objetos não devem ficar por pouco tempo na parafina quente. O endurecimento segundo experiências feitas aqui não aumenta na estufa quando água e álcool foram tirados completamente. O benzol escapa relativamente depressa em poucas horas. Para não provocar um enrequessimento de vapores de benzol na parafina, é indicado de tempos e tempos tirar o ar com os gáses da estufa com ajuda de uma bomba de jato de água.

94. A temperatura da estufa deve ser entre 60° e 61°.
Com temperatura inferior a velocidade de penetração da parafina principalmente em insetos é reduzida.

95. Para a inclusão de insetos maiores bastam vidros normais de relógio de 8 cm de diâmetro e de 1 cm de profundidade. Para objetos maiores prestam-se placas coniformes de vidro ou porcelana com várias profundidades.

96. Para objetos maiores podem-se empregar com vantagem molduras de metal que constam de uma placa básica polida de um metal não oxidável e de 2 peças retangulares que também são polidas ou pelo menos esmeriladas. Pela modificação das peças nos ângulos que tem uma altura de 1,5 cm e uma grossura idêntica podem-se conseguir todas as formas do bloco de parafina.

97. Antes de deitar a parafina no vidro deve-se passar êste um pouco de glicerina o que pode-se dispensar quando trata-se de metal polido.

98. Quando a parafina mostrar uma superfície endurecida os objetos orientados não podem ser mais movidos, deita-se as plaquinhas na água ou ponha a forma numa placa juntando água que porém não deve chegar na superfície da parafina. Deve-se evitar a submersão até que a superfície do bloco seja totalmente endurecido. Endurecimento sem esfriamento por água dá blocos desiguais.

VI. Cortes.

99. A grossura de corte mais favorável está entre 5 e 10 micra. Depois de uma inclusão perfeita tornam-se possíveis cortes de 2 micra de grossura. Parafina aborrachada começa enrolar em cortes com 15 micra de grossura.

100. No corte de objetos entomológicos deve-se prestar atenção que o corte seja feito uniforme e não devagar demais.

101. O comprimento da fita de cortes conexos não deve ser demais. Deve-se deixar na lâmina suficiente espaço que os cortes possam esticar-se na direção longitudinal da fita. Com grossura de corte reduzida dá-se o juntamento dos cortes numa proporção maior do que com uma grossura maior.

102. Deve-se colar os cortes com muito cuidado pois o corte de um inseto compõem-se normalmente de numerosas partes soltas.

103. A lâmina cuidadosamente limpa é esfregada com uma pequena gota de glicerina com albumina com o dedão com pressão até que o vidro seja coberto de uma camada uniforme bem visível de glicerina com albumina. Em seguida deitam-se 3 a 4 gotas H_20 (dist.) que espalham-se ràpidamente e uniformemente sôbre a lâmina.

Soluto: Partes iguais de glicerina pura e albumina (clara de ovo) de um ovo fresco de galinha são misturadas fortemente e filtradas. Junta-se na proporção de 1% formol contra formação de cogumelos ou ácido tímico na mesma forma.

104. As fitas de cortes são tiradas com um pincel da navalha e colocadas da esquerda a direita em seqüência por sôbre a camada aquosa.

105. A lâmina é deitada numa placa elétrica com 45° a 55°, não mais para não desmanchar a parafina, ou numa mesa metálica aquecida a gás. Para distribuição uniforme do calor pinga-se antes um pouco de água sôbre o qual coloca-se a lâmina. Os cortes estendem-se aqui visìvelmente até o tamanho quase normal que é atingido quando desaparecem as dobras (visível quando olhado lateralmente).

106. A água é tirada da lámina. Deve-se prestar atenção que os cortes ficam na mesma ordem. Com um pincel as fitas de cortes podem ser movidas cuidadosamente.

107. As láminas coloca-se então num ponto menos quente da placa para secar.

108. Não deve-se esquecer de enumerar a lámina antes de esfregar a glicerina. É melhor utilisar-se para isto um diamante de escrever normal.

VII. Coloração.

109. Antes de cada coloração deve-se lembrar bem quais as substâncias no corte que deseja-se corar principalmente. Disto depende a escolha do método de coloração que depende da natureza da substância a ser tingida e ainda da natureza da substância que tinge.

110. O seguinte resumo dá uma pequena idéia das múltiplas possibilidades:

1. Grupo das anelinas:
   anelinas básicas constantes de um corpo cromogénio e de uma cromófora de natureza básica (cromófora são NH_2 NH, CH_3, $N(CH_3)_2$, NH e outras.

P.e.: fucsina básica, violeta de gentiana, azul de metilena, verde de metilena, tionina, azul de toluidina .
São coloridos especìficamente: oxicromatina dos núcleos, grânulas ácidas dos núcleos e das células, nervos, secreções.
Anilinas básicas dissolvem-se bem em álcool, menos em água.
"Uma anilina básica é um corante alcalino ou o sal dêste."

2. Grupo das anelinas:
anelinas ácidas constantes de um corpo cromogêneo e de uma cromófora de natureza ácida (cromóforas são: OH, COOH, NO_2, SO_2OH e outras).
P.e.: vermelho de congo, eosina, eritrosina, orange, ácido pícrico, fucsina ácida.
São coloridas especìficamente: basicromatina dos núcleos, plasma e as suas diferenciações até a quitina.
Anilinas ácidas não se dissolvem bem em álcool, mas sim em água.
"Uma anilina ácida é um corante ácido ou o sal dêste".
3. Grupo das anelinas:
anilinas anfóteras constantes de um corpo cromogêneo com cromóforas básicas e ácidas. O excesso de um grupo determina a natureza da côr.
4. Grupo das anilinas:
anilinas neutras proveniente da reunião de um corante ácido com um corante alcalino como substância nova (não é mistura!).
5. Grupo das anilinas:
anilinas indiferentes constantes de um corpo cromogêneo e de uma cromófora indiferente (cromóforas são: OCH_3, OC_2H_5, 0).

111. Ficou comprovado que na coloração do corte é mais aconselhável de trabalhar com solutos de coloração fortemente diluídos pois tingem mais uniformemente não deixando flóculos do meio da coloração e não colocando-se por cima das estruturas finas. Em geral um preparado feito assim tem uma coloração mais clara e limpa do que um preparado com solutos concentrados.

112. No caso existe a escolha entre a coloração progressiva e regressiva deve-se preferir o método progressivo com solutos bastante diluídos. A coloração regressiva só devia servir a reprodução de estruturas especiais.
Durante a coloração progressiva é observado o prosseguimento da absorção da côr pelos tecidos até ser atingido o grau de coloração desejado, na coloração regressiva a coloração é sempre exagerada e com um líquido apropriado a côr é extraído até o grau desejado ou destruída.

113. Os cortes secados numa placa de aquecimento (algumas horas, melhor 24 horas, pois a glicerina evapora devagar!) são passados

ràpidamente por uma flama de gás até que a parafina começa se difundir. Nisto a albumina coagula na lâmina. Em seguida êles são transportados, possìvelmente com parafina líquida, para um vidro de coloração com xilol aonde a parafina se dissolve (duração 5 minutos). Os cortes são segurados agora pela albumina coagulada no vidro. Dêste momento em adiante os cortes devem ser tratados com o máximo cuidado podendo ser movidos só ligeiramente quando colocados em outros vidros de coloração pois em caso contrário soltam-se partes dos cortes.

114. Não raras vêzes cortes aceitam só ligeiramente anilinas ácidas como orange, eosina, azofloxina, verde de luz, fucsina ácida ou cromotróp 2 R. Nesse caso ajuda uma ligeira acidificação do soluto de coloração: uma gota de ácido acético glacial em 100 cm^3 do soluto (não mais!).

115. Os cortes são conduzidos através da série com álcool, em cada uma 2 a 3 minutos, como exige cada método de coloração.

116. Carmim com alumen de crômo.

a) Sai de H_2O (dist.) para: carmim com alumen de crômo 1 a 12 horas (controlar, em caso de excesso de coloração pode ser descolorido com álcool com ácido clorídrico a 0,5%),
b) lavar em H_2O (dist.),
c) série com álcool até 96%, (veja nr. 86),
d) coloração em vermelho de congo 24 horas ou 1 hora em soluto de coloração aquecido até 60°, coloração contraste para quitina,
e) depois do resfriamento lavar em álcool a 96%,
f) série com álcool e xilol e bálsamo.

Resultado: Núcleos azuis escuros ou prêtos, quitina vermelho brilhante, estruturas plasmáticas em diversas tonalidades de cinza a vermelha atenuada.

Solutos: 1. Carmim com alumen de crômo: em 100 cm^3 de H_2O (dist.) de 80° a 90° são diluídas 6 gramas de alumen de crômo adicionando-se em seguida 1 g de carmina e fervendo-se o soluto durante 15 minutos. Depois do resfriamento é filtrado adicionando-se ao filtrado timol ou formol (1%) contra a formação de cogumelos.

2. Vermelho de congo: 1 g de vermelho de congo é sacudido em 100 cm^3 de álcool a 96% repetidamente e filtrado depois de 24 horas. Ambos os solutos são estáveis.

117. Hemalumen ácido:

a) de H_2O (dist.) para hemalumen 4 a 6 minutos ou mais até a completa coloração dos núcleos (controlar),

b) lavagem em água corrente 30 minutos ou mais.
É bom de colocar os cortes antes da desidratação por 2 a 3 minutos em álcool amoníaco a 1% quando a água da bica não tem propriedades alcalóides suficientes. Não se deve deixar de lado a lavagem na água corrente pois todas as anilinas com hemateina são extremamente sensíveis para ácidos.
c) série com ácool até a 96%,
d) coloração contraste com vermelho de congo em n.º 116.

Resultado: núcleos de azul claro, quitina de vermelho brilhante, tecidos cinzo azuis, estruturas filbrilosas vermelhas atenuadas.

Soluto: hemalumen ácido: em 500 cm^3 H_20 (dist.) são dissolvidas 0,5 g de hematoxilina adicionando-se exatamente 0,1 g iodato de sódio ($NaJO_3$) como meio de oxidação. Junta-se ainda 25 g alumen de potássio puro. Depois da dissolução do alumen são adicionadas 25 g de cloralidrato e 0,5 g de ácido cítrico cristalisado. O soluto conserva-se em vidro neutro.

118. Hematoxilina de Delafield:

a) de H_20 (dist.) para hematoxilina de Delafield 4 a 5 horas.
b) em caso de excesso de coloração diferenciar em álcool clorídrico (1 gota de ácido clorídrico oficinal em 100 cm^3 de álcool absoluto),
c) continuação como em n.º 117 b. A lavagem deve ser bastante demorado.

Resultado: Como no hemalumen encontrando-se porém as estruturas plasmáticas coloridas mais forte ou mais fraco em diversos graus. Pode-se eventualmente deixar de lado uma coloração contraste se não é desejada a diferenciação das partes quitinosas (coloração contraste com vermelho de congo) ou se devem ser reproduzidas secreções (coloração contraste com uma anilina destilada de breu).

Soluto: hematoxilina de Delafield: soluto-mãe: em 200 cm^3 de H_20 (dist.) são dissolvidos 20 g de alumen amoníaco juntando-se 4 g de hematoxilina dissolvidas anteriormente em 25 cm^3 de álcool absoluto. O soluto deve permanecer aberto e exposto a luz durante 3 a 4 dias sendo filtrado em seguida. Junta-se ao filtrado 50 cm^3 de glicerina e 50 cm^3 de álcool metílico. Depois de 4 dias durante os quais o soluto fica novamente aberto e exposto a luz, é novamente filtrado. O soluto-mãe conserva-se bem. Para a coloração utilisa-se de 0,5 cm^3 do soluto-mãe em 50 cm^3 de H_20 (dist.). No caso que são desejadas estruturas mais finas e interessante de corar com um soluto de meia concentração (0,5 cm^3 em 100 cm^3 de H_20 dist.) durante 24 horas.

119. Hematoxilina férrica de Heidenhain:

a) de H_2O (dist.) para alumen férrico (2,5%) 3 a 12 horas.
b) lavagem em H_2O,
c) coloração em hematoxilina 12 a 36 horas (formando-se laca preta de hemateina férrica),
d) alumen férrico (2,5%), diferenciar sob contrôle permanente, antes lavar cada vez em água corrente para interromper a diferenciação. Para evitar a destruição da laca de coloração pode-se utilizar pouco antes do término um soluto mais diluído (1,25%).
e) lavagem em H_2O (corr.) 1 hora podendo-se eventualmente colocar antes o corte em água amoníaca (0,1%),
f) continuação como em n.º 117.

Resultado: de acôrdo com o método da fixação e o grau da diferenciação diferentes estruturas são coloridas fortemente prêtas: cromatina, nucléolos, estriação Q e Z e grânulas da musculatura, centrosomos, mitocóndrias, grânulas celulares etc. Os outros tecidos são coloridos em graus vários cinza atenuada ou amarelo. Em geral pode-se deixar de lado a coloração contraste recomendando-se porém a coloração contraste com vermelho de congo para a orientação mais fácil em cortes de insetos (veja n.º 116).

Solutos: 1. Alumen férrico: 2,5 g de alumen férrica (cristais de côr violeta clara) dissolver em 100 cm^3 de H_2O (dist.),

2. hematoxilina: 1 g de hematoxilina em 20 cm^3 de álcool a 96% dissolver e completar com 180 cm^3 de H_2O (dist.). O soluto adquira sòmente depois de 4 a 5 semanas a sua capacidade de coloração devido da oxidação da hematoxilina em hemateina ao ar livre. Para a coloração usa-se a solução em meia concentração com H_2O (dist.). A oxidação pode ser apreciada pela adição de 0,2 g de $NaJO_3$ a 1 g de hematoxilina. O soluto assim preparado pode ser utilisado imediatamente.

120. Também neste método deve-se preferir freqüentemente a coloração progressiva à regressiva quando são visados quadros gerais ou quando deseja-se a coloração de cortes com diversos órgãos. Para isto emprega-se o soluto fortemente diluído: 1 parte de soluto de coloração em 3 a 5 partes de H_2O (dist.). O prosseguimento da coloração deve ser controlado de vez enquanto.

121. Hematoxilina férrica segundo Weigert.

a) de H_2O (dist.) os cortes são colocados num banco de coloração numa placa de Petri de forma que se encostam nem em nada e são então cobertos com a mistura de coloração, duração de 1 a 2 minutos,
b) em caso de excesso de coloração diferenciar em ácido clorídrico a 0,1% (HCl em H_2O),

Resultado: como em hemalumen mas as côres mais fortes e as estruturas mais finas com coloração mais forte e com separação mais nítida. Depois da hematoxilina segundo Heidenhain êste método é muito apropriado em insetos pois ela representa os diferentes tecidos bem diferenciados. (Indicado principalmente para métodos microanatómicos.)

Solutos: 1. 1 g de hematoxilina em 100 cm^3 de álcool a 96%.
2. 1,16 g cloreto de ferro em 98 cm^3 de H_2O (dist.) com 1 cm^3 de ácido clorídrico oficinal (ou 4 cm^3 de liquor ferri sesquiclorati em 96 cm^3 H_2O (dist.) com 1 cm^3 de ácido clorídrico oficinal). De ambos os solutos são misturadas partes iguais antes do uso. A mistura estrage depois 8 dias, os solutos conservam-se infinitivamente.

Ficou comprovado que em muitos casos um soluto de coloração mais fraco oferece vantagens principalmente na reprodução de estruturas plasmáticas mais finas em células glandulares.

Nêstes casos trabalha-se com 1 parte hematoxilina, com 1 parte de cloreto de ferro e 2 partes de H_2O (dist.) durante 5 a 6 minutos.

122. Coloração do núcleo com azul de toluidina.

a) de álcool a 70% para um soluto de alumen férrico de 5% em álcool a 70% durante 2 a 3 horas,
b) lavagem em álcool a 70%,
c) colocação em soluto de coloração durante 12 a 24 horas,
d) lavagem em álcool a 70%,
e) álcool a 96% durante 2 minutos,
f) vermelho de congo (1% em álcool a 96%), 24 horas (ou 1 hora a 60°),
g) álcool a 96% durante 2 minutos, em seguida álcool absoluto e xilol.

Resultado: coloração do núcleo de azul claro, plasma de coloração fraca, quitina vermelha forte, saliva e secreções também inclusões do plasma das células glandulares coloridos metacromàticamente conforme a sua composição.

Soluto: soluto saturado de azul de toluidina em H_2O (dist.) misturar depois de 2 dias com a mesma quantidade de álcool de 96%. Para a coloração usa-se dêste soluto-mãe 3 cm^3 em 80 cm^3 de álcool a 70%. O soluto-mãe conserva-se bem.

Pode-se empregar em vez azul de tolidina também tionina porém esta última ainda é mais sensível a ácidos do que o azul de toulidina.

123. Coloração do núcleo com safranina.

a) de álcool a 70% para o soluto de coloração, 24 horas,
b) lavagem em álcool a 70%,
c) continuação como em n.° 116 c.

Resultado: Os núcleos brilham de vermelho (basicromatina), melhor como uma coloração contraste com vermelho de congo só e uma com vermelho de congo e verde de luz (fortemente diluído).

Solutos: 1. verde de luz: soluto saturado em H_2O (dist.), depois de 2 dias completar com o mesmo volume de álcool a 96%, dêste soluto-mãe adiciona-se 3 cm^3 a 80 cm^3 de um soluto de 1% de vermelho de congo em álcool a 96%.

2. Safranina: 1 g de safranina em 70 cm^3 de álcool a 100%, adicionar 30 cm^3 de H_2O (dist.).

124. Colorações do núcleo boas, estáveis e simples dão as combinações entre as anilinas de breu sintéticas e de um líquido mordente (detalhes veja Becher 1921):

125. Galocianina com alumen de cromo:

a) de H_2O (dist.) para o soluto de coloração durante 24 a 48 horas,
b) H_2O (dist.) durante 15 a 20 minutos,
c) série dos álcoois, xilol, bálsamo (eventualmente pode ser feito de acôrdo com as necessidades em álcool a 96% uma coloração de quitina com vermelho de congo, veja n.º 116).

Resultado: sòmente a cromatina dos núcleos tinge-se azul escuro até prêto.

Soluto: Em 100 cm^3 do soluto de alumen de cromo a 5% em H_2O (dist.) são fervidos exatamente 0,5 g de galocianina durante 3 minutos. Depois de esfriar filtrar e completar para 100 cm^3 com H_2O (dis.) O soluto conserva-se diminuindo porém paulatinamente a sua intensidade.

126. Azul de galamina com alumen de potássio execução como com galocianina em n.º 125, tingindo porém 12 a 24 horas no soluto de coloração.

Resultado: Núcleos azul brilhantes, limites das células, estruturas fibrilosas, membrana basal e quitina não fortemente incrustada metacromàticamente vermelho atenuado, plasma fracamente azul ou violeta.

Soluto: Em 100 cm^3 de soluto de alumen de potássio a 5% em H_2O (dist.) são fervidos 0,1 g de azul de galamina até a solução, esfriar depois e filtrar. O soluto é estável podendo-se empregar em vez de alumen de potássio alumen de sódio.

127. Alizarincianina G com cloreto de alumínio: Execução como galocianina em n.º 125 devendo a duração de coloração ser encontrada empìricamente. A formação da laca de alumínio completa-se de acôrdo com o objeto e a fixação em 1 hora a 24 horas.

Resultado: Com curta duração tingem-se apenas claramente os núcleos, com duração mais longa também partes do tecido restante. Uma supercoloração não se observa nunca.

Soluto: em 100 cm³ de cloreto de alumínio a 5% em H_2O (dist.) são fervidos exatamente 0,25 g do corante durante 10 minutos, filtrar 2 horas depois e refiltrar uma semana depois. Depois de adição de formol ou timol contra a formação de cogumelos o soluto é estável. Pode ser empregado também em vez de alizarincianina G ou RR naftazarina ou rufigalol.

128. Azul de antrazena com sulfato de alumínio: execução como em galocianina em n.º 125, duração de 1 a 3 horas.

Resultado: Núcleos de azul violeta, tecidos em várias tonalidades avermelhados ou violetos.

Soluto: em 100 cm³ de sulfato de alumínio a 5% em H_2O (dist.) são fervidos 0,25 g de azul de antrazena ràpidamente e filtrados 2 ou 3 horas depois. O soluto é estável.

129. Coloração múltipla segundo Gieson.

a) depois da coloração do núcleo com hematoxilina férrica segundo Weigert e lavagem em H_2O (corr.) secagem dos cortes com papel de filtro liso,
b) cobrir os cortes com fucsina pícrica durante 1 minuto,
c) retirar o soluto de coloração e secar com papel de filtro liso,
d) álcool a 96% durante 1 a minutos,
e) álcool a 100% duas vêzes durante 2 minutos,
f) benzol-xilol-bálsamo de canada.

Resultado: núcleos marrom escuro, tecido vermelho, músculos amarelos. Êste método usa-se sòmente como coloração rápida, pois as côres desabotam depois de algum tempo.

Soluto: fucsina pícrica: 100 cm³ de ácido pícrico aquoso saturado com 1 cm³ de um soluto de fucsina ácida a 1% em H_2O (dist.).

130. A coloração múltipla melhor, mais segura e estável é o método segundo Mallory modificado por Heidenhin (coloração "Azan"). Recomenda-se de evitar objetos com fixadores contendo cromo. Todos outros objetos fixados de outra forma podem ser utilizados:

a) de álcool a 96% para álcool com anilina durante 30 minutos,
b) álcool de 70% e 40%, cada um durante 2 minutos,
c) H_2O (dist.) durante 3 minutos,
d) colocar em azocarmina a 60º na estufa durante 15 minutos e em seguida deixar esfriar durante 10 minutos (numa placa com água),

e) lavagem em H_2O (dist.),
f) diferenciar em álcool com anilina (com contrôle até que sòmente os núcleos estejam vermelhos). Êste processo pode ser apreciado por adição de H_2O (dist.),
g) álcool com ácido acético durante 1 minuto,
h) soluto de ácido forfortúngstico a 5% em H_2O durante 2 horas,
i) H_2O (dist.) durante 1 hora,
k) azul de anilina-orange-ácido acético durante 3 horas,
l) H_2O (dist.), série com álcool, diferenciar em álcool a 96%, xilol e bálsamo de canada.

Resultado: Tecido azul, cromatina vermelha, músculos avermelhados até orange, saliva azul, quitina vermelha e amarela conforme a espécie das incrustações.

Solutos: 1. Álcool com anilina: 0,1 cm^3 de óleo de anilina pura em 100 cm^3 de álcool a 96%. 2. Azocarmina: 0,1 g azocarmina G em 100 cm^3 H_2O (dist.) misturar e ferver ràpidamente. Depois do resfriamento filtrar. Os cristais do corrante que depositam-se no filtrado disolvem-se quando aquecidos. A 100 cm^3 adiciona-se 1 cm^3 de ácido acético glacial. 3. Álcool com ácido acético: 1 cm^3 de ácido acético glacial em 100 cm^3 de álcool a 96%. 4. Azul de anilina-orange-ácido acético: emprega-se como soluto-mãe 0,5 g de azul de anilina (solúvel em água) e 2 g de orange de ouro G em 100 cm^3 H_2O (dist.) com 8 cm^3 de ácido acético glacial. Ferver e filtrar depois do resfriamento. Emprega-se uma parte do soluto-mãe com 3 partes de H_2O (dist.).

131. Como coloração de contraste pode-se empregar com resultado satisfatório vermelho de congo isolado (1% em álcool a 96%, duração da coloração 6 a 10 horas com cortes de 5 micra de grossura, 12 a 24 horas com cortes de 10 micra, 1 a 2 horas quando o soluto de coloração é aquecido a 60° (veja sob n.° 10).

Resultado: Quitina vermelho brilhante, fibrilas elásticas ligeiramente vermelhas, os outros tecidos tem coloração de diversos graus de acôrdo com o corrante do núcleo.

132. Consegue-se também bons resultados com uma coloração de contraste com vermelho de congo-orange GG:

a) depois da coloração do núcleo com hematoxilina férrica segundo Weigert ou Heidenhain lavar bem os cortes em H_2O (corr.),
b) de H_2O (dist.) para vermelho de congo-orange GG durante 24 horas ou 2 horas a 60°,
c) diferenciar em álcool a 96%,
d) desidratar e incluir em bálsamo de canada.

Resultado: Núcleos e estruturas fibrilosas como em n.º 119 e 121, quitina vermelha ou amarela conforme as incrustações, possibilitando freqüentemente uma separação entre exo — e endocutícula, músculos marrom claro.

Soluto: solutos aquosos e saturados com vermelho de congo e orange GG são misturados em partes iguais (com um pouco de timol contra a formação de cogumelos). Pode acontecer que depois das fixações com misturas de formol ou sublimado os cortes tingem-se só ligeiramente (depende do objeto), nêste caso ajuda freqüentemente uma acidificação (1% de ácido acético glacial no soluto de coloração. Cuidado nos colorações com hemateina).

133. Para deixar a camada possìvelmente bem fina depois da inclusão dos cortes em bálsamo de canada (importante em caso de imersão oleosa), emprega-se com vantagem bálsamo bem fluído pois depois da evaporação do meio da dissolução a camada torna-se mais fina. Eventualmente deve-se adicionar depois um pouco de bálsamo. Um bom meio auxiliar para a redução da camada de bálsamo é o emprêgo de pequenos pêsos de chumbo colocados na lamínula depois da inclusão. Para pequenas lamínulas de 18 por 18 mm de comprimento dos cantos bastam pêsos de 11 mm de comprimento e 5 mm de diâmetro, para lamínulas de 24 por 32 mm de comprimento dos cantos tais de 15 mm de comprimento e 5 mm de diâmetro, para lamínulas maiores serve na proporção o número maior de pêsos. Bálsamo excedente pode-se tirar depois com uma gilete e lavar com xilol.

134. Na coloração na estufa evita-se de colocar as cuvetas ou vidros abertos na estufa pois as evaporações de água, álcool e benzol ou xilol impurificam a parafina. Melhor é colocar num dessecador ligado com um tubo de borracha para fora. Assim pode-se preaquecer em vidros com rolhos esmeris os líquidos e proceder a coloração.

VIII. Temas especiais.

135. Demonstração da estriação dos músculos: para a prova que a estriação dos músculos não é um produto artifical de coloração são tirados do inseto morto e não fixado fibrilas musculares das partes diferentes do corpo (como exemplos de demonstração recomenda-se o sistema central longitudinal e os músculos da cápsula craniana das lagartas dos lepidópteros). Coloca-se imediatamente:

a) em ácido acético glacial durante 10 minutos,
b) H_2O (dist.) durante 10 minutos,
c) H_2O (dist.) e glicerina (1 : 1) durante 10 minutos,
d) glicerina pura, incluir e fechar (veja em n.º 17 e 18).

Pela absorção d'água tornam-se visíveis as inocómatas no preparado glicerinado das fibrilas isoladas (observação no microscópio de

contraste de fase, ou na luz polarisada). As listras Z podem ser reconhecidas. Elas apertam o músculo em forma de segmentos. Esta última observação é especialmente nítida nos músculos com camada forte de sarcoplasma.

136. Para a demonstração da musculatura estriada do esófago ou reto deve ser isolada a musculatura longitudinal e anelar e ser tratada como em n.º 135. Recomenda-se também uma coloração com hematoxilina de Delafield depois da fixação dos músculos isolados com vapores de formol (veja-se sob n.º 51).

137. Para demonstração da musculatura estriata incompleta do intestino medial (de uma lagarta ou uma larva de um coleóptero) a muscularis é tirada cuidadosamente e tratada como membrana numa plaquinha com ácido acético glacial como em n.º 135. A membrana é segurada por uma lamínula em glicerina-água 1 : 1 e desdobrada. Em seguida vira-se a lamínula com a pinça e é deitada por cima de uma gota de glicerina na lâmina e fechada. Uma coloração também e possível como em n.º 136.

138. Para demonstração de partes quitinosas do intestino principalmente dos dentes quitinosos do proventrículo o intestino é preparado e molhado numa plaquinha com um soluto de 1/10 n — NaOH. A maceração dos tecidos deve ser controlado. Depois de pouco tempo as partes quitinosas podem ser isoladas por ligeira vibração ou isolação. Vantajoso é uma coloração precedente dos tecidos com vermelho neutro bem diluído.

139. Para uma demonstração colorida dos cromosomos em preparados esmagados das glândulas salivares ou do cérebro das larvas da Drosófila presta-se o seguinte método: colocar o esfregaço durante 2 a 5 minutos no soluto de coloração, em seguida série com álcool e xilol.

Soluto: Aquece-se 60 cm^3 de ácido acético glacial adicionando 2 g de orceina e em seguida 40 cm^3 de H_2O (dist.), filtrando depois do esfriamento.

Em vez dêste soluto pode-se usar também o soluto saturado com carmim em ácido acético glacial a 40%. Êste método nem sempre é seguro, pois as qualidades do carmin estão sujeitas a fortes variações. Apresentação dos cromósomos. Para aumentar cromósomos pela imbibição recomenda-se colocar os cortes antes da coloração num soluto a 2% de tiosulfato de sódio em H_2O (dist.). O processo deve ser controlado ou si um contrôle não é praticável por razões técnicas deve-se determinar empìricamente o tempo pois também outras estruturas celulares estão sujeitas a imbibição nêste soluto. Em seguida coloração com hematoxilina ou corrantes específicos de núcleos.

140. Esfregaço do líquido da cavidade abdominal: Para conseguir líquido da cavidade abdominal morta-se o inseto cortando imeditamente todas as 6 pernas no meio do fêmur. Faz-se então pressão uniforme e crescente com uma larga pinça sôbre o abdomen. Assim sai uma grande parte do líquido pelos troncos das pernas. O esfregaço é preparado como com sangue dos mamíferos de forma que a gota na lâmina bem limpa é puxada por um vidro inclinado.

141. Coloração dos esfregaços com hematoxilina férrica — verde de luz segundo HEIDENHAIN:

a) depois do tratamento com gás de OsO_4 ou formol lavar em água corrente,
b) coloração e diferenciação com hematoxilina férrica de Heidenhain (como em n.º 119),
c) de água (corr.) lavar em H_20 (dist.),
d) continuação como em n.º 142 h) — i).

142. Coloração dos esfregaços com safranina — verde de luz:

a) depois da fixação pelos vapores de ácido ósmico lavar em água (corr.),
b) H_20 (dist.) duas vêzes, cada vez 10 minutos,
c) álcool a 70%, duração 2 horas,
d) branquear em H_20_2, duração 10 a 15 minutos,
e) safranina, duração 10 minutos,
f) lavar em H_2O (dist.),
g) submergir em álcool a 96%,
h) verde de luz 1/2 — 2/3 minuto,
i) álcool a 96%, desidratar e incluir em bálsamo.

Resultado: Cromatina e núcleos vermelhos, plasma e as suas diferenciações verdes.

Solutos: Safranina (solúvel em água) em soluto saturado em H_20 com óleo de anilina. Verde de luz em soluto de 1% em álcool a 96%.

143. Coloração dos nervos segundo COWDRY:
Fixação segundo CARNOY durante 2 a 3 horas,

a) abrir o inseto, preparando eventualmente as partes desejadas,
b) série com álcool até o álcool a 40%,
c) lavagem em H_20 (dist.),
d) soluto de nitrato de prata 1,5% durante 2 dias,
e) idem, 1 dia,
f) lavagem em H_20 (dist.),
g) reduzir no escuro durante 24 horas,
h) lavar em H_2O (dist.),
i) álcool a 96% durante 1 hora,

k) álcool de 100% durante 2 horas,
l) óleo de cedro durante 2 horas,
m) parafina a 60° durante 3 horas.

(Os objetos devem ser pequenos, insetos inteiros devem ser abertos. De i) — m) recomenda-se um vácuo pois fàcilmente ficam restos de água e álcool). O objeto é cortado numa grossura de 2 a 3 micra. Tratamento dos cortes:

a') de H_2O (dist.) para um soluto de cloreto de ouro (0,1% aquoso, neutralisar com carbonato de lítio) durante 2 horas,
b') tiosulfalto de sódio a 5% durante 5 minutos,
c') água (corr.) durante 6 horas,
d') coloração de contraste em soluto com toluidina (a 1% aquoso),
e') desidratar e incluir em bálsamo.

Soluto: Líquido de redução: 1 g de ácido pirogálico, 5 cm^3 de formol (40%) e 100 cm^3 de H_2O (dist.).

Resultado: Fibrilas nervosas, membrana basal, sarcolema e outras membranas, também tonofibrilas prêtas, células dos nervos cinza-amarelas, substância isotrópica dos músculos auro-amarela, substância anisotrópica, estriações M e Z prêtas. Estrutura mais fina da quitina bem nítida, melhor do que com a coloração com vermelho de congo-ácido fosfortúngstico. Devido as tonalidade diferentes de preto e amarelo e a estrutura nítida das fibrilas e membranas o preparado apresenta um quadro plástico.

144. Coloração do cilindro axial segundo MALLORY:

a) fixação em formol a 40% 1 por 3 com água da bica,
b) diretamente num soluto aquoso e saturado de cloreto de chumbo (pouco acima de 1%) a 40° durante 6 dias, mudando o líquido no primeiro, terceiro e no quinto dia,
c) lavar em H_2O (corr.) durante 24 horas,
d) desidratar e incluir em parafina,
e) cortar com uma grossura de 3 a 5 micra,
f) coloração (soluto veja em baixo) a 60° durante 30 minutos a 1 hora,
g) 5 a 30 minutos em H_2O (dist.), acidificar com 2 gotas de ácido acético em 100 cm^3 de água,
h) série com álcool até 100%,
i) terpinol,
k) bálsamo de canada dissolvido em terpinol.

Resultado: Cilindro axial azul até preto, núcleo azul, citoplasma azul-cinza, também neutrofibrilas, mas nìtidamente separadas.

Soluto: Soluto I : 1 g de hematoxilina em 50 cm^3 de álcool absoluto,

Soluto II: Soluto aquoso saturado de carbonato de magnésia ou cálcio.

Antes do uso adiciona-se à 20 cm^3 do soluto II 1 cm^3 do soluto I. A mistura pode ser usado só uma vez.

145. Coloração dos nervos segundo Bubenaite, principalmente para demonstração do aparelho de Golgi:

a) Fixação em formol (40%, 1 : 9) 2 dias ou mais,
b) bicarbonato de potássio (aquoso a 2,5%) a 34° durante 2 dias (pendurar os objetos no líquido),
c) secar com papel de filtro,
d) lavar em nitrato de prata a 2% aquoso a 34°,
e) nitrato de prata a 2% aquoso a 34° durante 2 dias,
f) desidratar ràpidamente e incluir, possìvelmente com vácuo.

Os cortes com uma grossura de 3 micra são tratados como em 143 a) e b) e a').

146. Cristalisação de secreções.

Na cavidade de uma lâmina escavada são colocadas escamas frescas, cerdas com secreção ou partes da cutícula ou a própria secreção. A margem da cavidade é fechada com um anel estreito de bálsamo de canada. Em seguida coloca-se uma lamínula de forma que a cavidade é hermèticamente fechada. Leva-se o preparado na estufa com 60°. Aqui evapora uma parte do líquido ràpidamente. Depois de 2 a 3 horas resfriamento eventualmente numa estufa a 40° até a temperatura do ambiente. Nisto sublima uma parte do líquido evaporado na margem em cristais típicos e conglomerados, que devem ser vistos em luz polarisada. O processo de sublimação pode levar alguns dias. Com uma formação fraca de cristais o processo deve ser repetido e modificado a temperatura e o tempo.

147. Um método vantajoso de ampliar a capacidade e a velocidade de penetração, é o emprêgo de vácuo. O método presta-se não sòmente para a fixação mas também para a desidratação e penetração com parafina. Para isto utilisa-se de uma bomba de jato de água ligada por um tubo fino metálico ou um tubo de borracha grossa por um dessecador normal com uma torneira de três saídas e ligado com um manômetro com mercúrio. Deve ser possível de fechar o manômetro com uma torneira de vidro.

148. Com a ligação da bomba liga-se diretamente o dessecador com a bomba por meio da torneira com 3 saídas e ao mesmo tempo aberta a torneira do manômetro. No caso que a ponta do mercúrio começa abaixar (veja n.° 151), existe um vácuo de 380 mm Hg igual a meia atmosfera. No caso que o mercúrio desce ràpidamente deve-se

diminuir a pressão da água. No caso da diminuição rápida do vácuo observa-se destruições ou deslocamentos no corpo do inseto que está colocado num recipiente no dessecador. A velocidade mais indicada é 15 a 25 mm/Hg por minuto. Nisto escapam do objeto pequenas bolhas de ar. Em pequenos insetos retira-se o ar até quase 350 mm/Hg, em maiores até quase 250 mm/Hg, no primeiro caso mais devagar (15 mm/Hg por minuto), no último caso mais ràpidamente (25 mm/Hg por minuto). Assim que o vácuo desejado fôr conseguido fecha-se a torneira com 3 saídas desligando a bomba. Em seguida mantendo-se o dessecador com vácuo durante 10 minutos não deixando diminuir a pressão. Fecha-se a torneira no manômetro abrindo a torneira com 3 saídas deixando entrar vagarosamente o ar. Com isto o líquido infiltra-se pelas traquéias para dentro do inseto. A torneira do manômetro deve estar fechada pois a subida do mercúrio pode arrebentar o tubo de vidro. Finalmente abre-se devagar a torneira do manômetro de forma que o mercúrio sobe devagar.

149. Para a pentração com parafina êsse processo é feito dentro da estufa com parafina líquida.

150. Se não existir uma torneira com 3 saídas pode-se empregar também 3 torneiras comuns. Uma torneira fecha o desvio para o manômetro, a segunda fica entre o manômetro e a bomba e a terceira fecha no dessecador um tubo curto pelo qual o ar entra no dessecador. É de vantagem de fechar o tubo quanto mais possível na sua boca, deixando uma abertura mínima de modo que o ar não possa entrar com exagerada velocidade.

151. Manômetro de mercúrio: Como com vácuo maior possam surgir deslocamentos e destruições nos órgãos, deve-se empregar apenas um vácuo entre 380 e 200 mm/Hg. Forma-se um tubo de vidro da grossura de um lápis e fechado numa extremidade em forma de um U deixando entre os dois braços uma distância de 2 a 3 cm. O comprimento da extremidade fechada é de 40 cm e da aberta de 35 cm. A ponta do último braço tem uma ligação virada sem comprimento determinado. Monta-se verticalmente numa tábua de madeira ligando na extremidade mais comprida uma medida em mm solta. Enche-se agora cuidadosamente o tubo de vidro com mercúrio puro não deixando entrar nem água nem ar até que o braço fechado esteja cheio e o menisco do mercúrio na parte aberta vai até 1,5 a 2 cm. A parte de ligação é ligado ao dessecador colocando ainda uma torneira. A medida em mm é colocada de forma que a marca de 380 mm está exatamente 380 mm está 380 mm por cima do menisco do mercúrio no braço aberto.

152. Se está à disposição borracha natural (latex de borracha = succo engrossado de borracha natural) e a possibilidade de trabalhar com vácuo (quase 300 mm/Hg, veja n.º 147), pode-se preparar na estufa um soluto saturado em parafina evitando assim o meio de solu-

ção. Corte-se um pedaço de latex de borracha em pedacinhos mínimos em parafina líquida deixando durante 2 a 3 dias a 60° remetendo. O soluto corresponde uma mistura de quase 5% de um soluto de borracha em clorofórmio com parafina. Esta parafina aborrachada é suficiente no emprêgo de vácuo em trabalhos histológicos, sem vácuo o resultado na infiltração é duvidoso. Emprega-se nêste caso melhor o método decrito sob n.° 28.

153. Meios óticos auxiliares.

Não procure de iniciar o exame de um objeto com um aparelho complicado. Para quadros gerais já bastam aumentos mínimos (possìvelmente binoculares), pois pela plasticidade maior a capacidade de imaginação do observador é ajudada. Cada aumento maior diminue a plasticidade.

Em trabalhos morfológicos e anatômicos mais finos como também em trabalhos histolólicos sòmente raras vêzes um meio auxiliar ótico é suficiente. Deve-se recomendar freqüentemente o emprêgo de luz polarisada, dos diversos microscópios com luz transparente e reflectante. Pode ser empregado também aumentos fracos do microscópio eltrônico (como para a estrutura mais fina dos anexos cuticulares). De grande vantagem é na dissolução de estruturas mais finas o microscópio de contraste de fase (p. e. Zeiss-Winkel) principalmente nos estudos de cortes pela quitina se êstes são ligeiramente coloridos com vermelho de congo ou verde de luz.

Detalhes em literatura técnica especialisada.

154. Ácido clorídrico: n-HCl = 3,6%.

Preparo: 10 cm^3 HCl (pêso específico 1,19 = 23° Be. = 37%) completar com H_20 (dist.) até 100 cm^3.

155. Ácido clorídrico oficial: adiciona-se ao 100 cm^3 HCl (pêso específico 1,19 = 23° Be. = 37%) 50 cm^3 H_2O (dist.) = pêso específico de 1,124 = 25%.

156. Liquor ferri sesquichlorati = soluto de cloreto de ferro ($FeCl_3$) a 29% em H_20 (dist.).

157. Ácido acético glacial = ácido acético concentrado.

Ácido acético = soluto de ácido acético glacial a 96% em H_2O (dist.).

158. Formol = soluto do gás de formaldehide a quase 40% em H_20 (dist.).

159. Álcool = álcool etílico puro, ponto de ebulição do álcool absoluto = 78°.

160. Anilina = Óleo anilina = Aminobenzol.!

161. Água anilinada = 10 cm^3 de anilina pura são dissolvidas em 100 cm^3 H_20 (dist.), sacudir.

162. Pontos de ebulição: acetona — 56°, clorofórmio — 61°, álcool metílico — 67°, álcool etílico — 78°, Benzol — 80,5°, toulol — 111°, xilol — 140°, óleo de anilina — 182°, benzoato de metila — 199°, creosot — 205°, terpinol — 210°, óleo de cedro — 237°, óleo de cravo — 247°, glicerina — 290°, óleo de parafina — 300°.

163. Valores de fração (nD) de alguns meios de clarificação e inclusão:

água (quìmicamente pura)	1,330
acetato de potássio	1,370
lactofenol	1,440
glicerina	1,456
terpinol	1,480
euparol	1,483
toluol	1,490
xilol	1,490
óleo de cedro	1,510
bálsamo de canada	1,530
óleo de Wintergreen	1,538
gelatina com glicerina	1,542
benzoato de benzila	1,570
óleo de anilina	1,588

IX. Literatura.

Índice da literatura veja na parte alemã. Um resumo dos trabalhos mais antigos e mais novos sôbre a microtécnica encontra-se em Romeis 1948.

X. Índice.

Acetato de potássio 163
Ácido acético 63, 157
Ácido acético glacial 64, 135, 157
Ácido clorídrico 15, 154, 155
Ácido crômico 49
Ácido fosfortúngstico 130
Ácido ósmico 49, 74
Ácido pirogálico 143
Ácido tricloracético 79
Acidulação das anilinas 114
Água (pura) 163
Água oxigenada 21
Albumina-glicerina 103
Álcool 51 — 54, 82, 83, 159
Álcool com ácido acético 114, 130
Álcool etílico 159
Alumen de crômo 116
Amolecimento da quitina 23
Anexos cuticulares 7, 9 — 12
Anilinas, ácidas 110
Anilinas, alcalinas 110
Anilinas, anfóteras 110
Anilinas, concentração 111
Anilinas, do breu sintéticas 124
Anilinas, em geral 110
Anilinas, indiferentes 110
Anilinas, neutras 110
Anilinas:
Alizarincianina G com cloreto de alumínio 127

Azocarmina 130
Azul de anilina — orange — ácido acético 130
Azul de antracena com sulfato de alumínio 128
Azul de metilena 15, 31, 32
Azul de toluidina 24, 122, 143
Carmina 116, 139
Carmina com alumen de crômo 116
Galamina com alumen de potássio 126
Galocianina com alumen de crômo 125
Hemalumen ácido 15, 117
Hematoxilina férrica 119, 121
Hematoxilina segundo Delafield 118
Hematoxilina segundo Heidenhain 119
Hematoxilina segundo Weigert 121
Orange 20, 34, 132
Orceina 139
Picrofussina 129
Safranina 123
Sudan III 33
Verde brilhant 31, 32
Verde de luz 123, 142
Vermelho de congo 10, 20, 131
Vermelho neutro 15, 31, 32
Atonia 3, 4
Bálsamo de canada 163
Benzoato de benzila 24, 163
Benzol 83
Bicromato do potássio 145
Bomba d'água a jato 148
Carbonato de cálcio 144
Carbonato de magnésio 144
Clarificação 19, 24, 25
Cloralhidrato 26
Cloreto de chumbo 144
Cloreto de ferro 121, 156
Cloreto de ouro 143
Colamento dos cortes 102
Coloração "Azan" 130
Coloração com anilinas histológicas veja sob anilinas
Coloração dos anexos cuticulares 9 — 11
Coloração dos músculos 34, 135
Coloração dos nervos 143 — 145
Coloração em geral 109
Coloração múltipla 129
Coloração progressiva 112
Coloração regressiva 112
Coloração total 15, 29 — 34
Corte dos blocos de parafina 99
Cromosomos 139
Depósitos de cromatos 73
Depósitos de formol 73
Depósitos de sublimado 77
Descamação 7
Descorar 21, 70
Desengorar 10
Deshidratação 82
Dessecador 134, 147
Diafanol 23
Diluição de formol 59
Diluição de líquidos 87
Dióxido de cloro com ácido nítrico 23
Dissecção dos insetos 27 — 29
Encolhimento 2, 14, 55, 67, 71
Endurecimento dos tecidos 93
Esfregaços 140 — 142
Estendimento dos cortes 105
Estufa 94, 134
Éter acético 2
Euparol 163
Fechamento do preparado 17, 18
Fezes dos insetos 8
Fixação com ácido acético glacial 64
Fixação com ácido nítrico 80
Fixação com ácido ósmico 49, 66, 74
Fixação com ácido pícrico 75
Fixação com ácidos pícrico e nítrico 76
Fixação com álcool 51 — 54
Fixação com álcool — ácido acético 71
Fixação com bicarbonato de potássio 73, 78
Fixação com formol 56
Fixação com gazes 48
Fixação com piridina 81
Fixação com sublimado 55, 77 — 79
Fixação com vapores de formaldehide 51
Fixação com vapores de iodo 50
Fixação dupla 37, 60
Fixação em geral 33
Fixação, líquidos 38

Fixação segundo Bouin 75
Fixação segundo Burke 81
Fixação segundo Carnoy 72
Fixação segundo Flemming 74
Fixação segundo Gilson 77
Fixação segundo Heidenhain 78
Fixação segundo Mayer 76
Fixação segundo Orth 73
Fixação segundo Petrunkewitsch 80
Fixação segundo Zenker 78
Formol 56, 62, 158
Gelatina com glicerina 163
Glicerina 13, 14, 163
Grossura dos cortes 99
Hidróxido de potássio 17
Hidróxido de sódio 19
Impregnação 143
Inclusão 89
Índices de refração 163
Injeção do fixador 43, 44
Iodo 77
Iodo com iodato de potássio 77
Kava-Kava 3, 4
Lactofenol 163
Líquido abdominal 140
Líquido de conservação segundo Jorres 26
Líquido de conservação segundo Klotz 26
Líquido de redução 143
Maseração 21
Manómetro (de mercurio) 148
Meios auxiliares óticos 153
Meios de inclusão, glicerina 13, 14
Meios de inclusão, xarope de borracha 16
Método de Spalteholz 24
Montagem dos cortes 133, 134
Músculos, estriação 135 — 137
Músculos, relaxamento 3 — 5
Nitrato de prata 143, 145
Observação da superfície 6
Óleo de anilina 25, 160, 161, 163
Óleo de cedro 163
Óleo de cravo 25
Óleo de Wintergreen 24, 163
Parafina 83, 89
Parafina com borracha 92, 152
Parafina, diluição 113
Parafina, infiltração 148
Parte quitinosa do intestino 138
Perhidrol 21
Placas de preparação 28
Ponto de ebulição 162
Preparados totais 13, 19
Prova de cêra 49
Prova de corpo gorduroso 33
Prova de gordura 49
Prova de músculos 34
Prova de óleo 49
Prova de quitina 20
Relaxamento dos músculos 3 — 5
Réplica 6
Sacrificação do inseto 112
Salicilato de metila 24
Secreções, cristalisação 146
Série álcool-benzol 83
Série dos álcoois 86
Soluto de borracha 28
Soluto de celulose 6
Soluto de Ringer 3
Sublimado 55
Terpinol 25, 144, 163
Tetróxido de ósmio 49, 74
Tiosulfato de sódio 77
Tiosulfato para cromosomos 139
Toluol 163
Vácuo 147
Xarope de borracha 16
Xilol 163

XI. Apéndice.

Objetos entomológicos indicados para investigações histológicas.

Para exame de:	Objeto	Método
A) Integumento		
1. estrutura:		
a) camadas, lamelas, pseudoporos	parede do corpo de uma lagarta pouco cabeluda (sfingideo, noctuídeo, para pseudoporos: lasiocampídeo)	cortes longitudinais e transversais, veja 1 c)
b) escleritos	abdomen de um culicídeo	corte transversal, veja 1 c)
c) membrana intersegmental	colémbola, larva de um muscídeo ou lepidóptero	Corte longitudinal. Corrosão com ácido forfortungstico, coloração com vermelho de congo. Luz polarisada ou contraste de fase.
2. anexos da cutícula:		
a) cabelos falsos	asas dos tricópteros	preparado total ou réplica
b) cabelos verdadeiros: cerdas, cabelos, escamas	lagartas de lepidópteros (lasiocampídeos, megalopigídeos) adultos dos lepidópteros (arctiídeos, noctuídeos), culicídeos, lepismatídeos, coleópteros.	preparados totais secos em ar ou em bálsamo de canada, cortes transversais
c) cabelos glandulares	lagartas dos arctiídeos, lasiocampídeos; pulvilas dos muscídeos, escamas odoríferas dos machos de lepidópteros.	cortes transversais e longitudinais, hematoxilina-vermelho de congo, preparados totais
d) cabelos sensíveis, covas sensíveis, órgãos coletivos	partes bocais e antenas de todos os insetos, palpos de lepidópteros, tarsos de muscídeos.	cortes como em cabelos glandulares, preparados totais dos respectivos órgãos secos ou em bálsamo.
3. Evaginações da cutícula:		
a) espinhões sem ramificação	tíbia posterior de lamelicorníideos ou lepidópteros	Preparados totais secos em ar, cortes, hematoxilina-vermelho de congo
b) espinhões com ramificação	lagartas de alguns lepidópteros (*Automeris*)	
c) formações monstrosas (atélicas)	Hemípteros: cabeça de fulgorídeos, protorax de membracídeos, pernas de coreídeos ou pentatomídeos, corpo inteiro de tingídeos.	
4. Hipoderme:		
a) estrutura celular	larvas novas com pêle recentemente	cortes longitudinais e transversais

Para exame de:	Objeto	Método
	mudada, melhor ainda larvas logo antes da muda	hematoxilina-eosina ou fucsina ácida, safranina-verde de luz, coloração "Azan"
b) estrutura sincicial	imagines mais antigos	idem
c) glândulas hipodermais: glândulas peçonhentas	lagartas de arctiídeos, lasiocampídeos ou megalopigídeos	hematoxilina férrica de Heidenhain, coloração "Azan", azul de antrazena com sulfato de alumínio.
glândulas odoríferas..	fêmeas de ficitíneos (fim do abdomen), machos de numerosos lepidópteros (p.e. glândulas laterais abdominais de brasolídeos)	idem
glândulas hormonais	lagartas de lepidópteros durante a muda	idem
glândulas colagêneas	pulvilas ou empódio dos artigos tarsais de muitos insetos	idem
glândulas de cêra	abelha de mel, lagartas de alguns lasiocampídeos, hesperídeos;Zelus leucogrammus	idem
glândulas repugnatórias	glândulas odorifetas dos heterópteros, osmotério das lagartas de papilionídeos	idem
glândulas mandibulais	cabeça da abelha de mel ou lagartas	idem e preparados totais
glândulas labiais	cabeça respectivamente tôrax dos heterópteros, das lagartas ou da abelha de mel	idem e preparados totais
glândulas do ferrão	fim do abdomen dos himenópteros aculeatos	idem e preparados totais
B) Músculos: a) músculos do esqueleto	larvas de muitos insetos (lepidópteros), masculo do tímpano das cigarras, fêmur dos ortópteros, músculos das asas dos sfingídeos.	hematoxilina férrica de Heidenhain
b) músculos intestinais:	proventrículo da barrata, intestino medial de larvas fitófagas (lepidóptera). Para o exame de fibras finas: intestino medial das larvas parasitárias (icneumonídeos, taquinídeos etc.)	idem

Para exame de:	Objeto	Método
c) tendões	pernas dos insetos, bomba salivar dos hemípteros, cabeça das lagartas dos lepidópteros.	coloração do núcleo com uma hematoxilina (Weigert) e coloração contraste com vermelho de congo a 60°
d) inserções	cutícula das lagartas dos sfingideos (inserções das grandes sequências musculares longitudinais), teto da faringe na cabeça de heterópteros	hematoxilina férrica de Heidenhain ou coloração "Azan"
C) Intestino:		
a) faringe	hemíptera, culicídeos	hematoxilina-vermelho de congo
b) esófago	barrata	cortes longitudinais e transversais, hematoxilina (Delafield) — vermelho de congo-orange (em d) sem coloração contraste, safranina-verde de luz, azul de antrazena-sulfato de alumínio, coloração "Azan".
c) proventrículo	idem	
d) intestino medial	idem	
e) fim do intestino	idem	
f) ceco do intestino medial	barrata, carabídeo, homóptera	hematoxilina-fucsina ácida, corantes de breu
g) tubos de Malpighi	quase todos os insetos	idem e preparados totais
h) membrana peritrófica	lagartas dos lepidópteros fitófagos	idem
D) Traquéias		
a) estigmas	lagartas dos lepidópteros	preparados totais ou cortes com hematoxilina-vermelho de congo
b) sistema das traquéias	tisanuras	clarificação do preparado total
c) ramificação mais fina	parede intestinal (sòmente muscularis) das larvas dos coleópteros, muscídeos ou lepidópteros	membrana inteira vista de cima com hematoxilina ou safranina
d) traquéolas	traqueio-branqueas das larvas de Zygóptera ou Corydalinae	sem coloração com microscópio de contraste de fase
e) sacos aéreos	nos órgãos timpanais e da estridulação dos ortópteros e homópteros, nas glândulas gonatrópicas dos homópteos	sem coloração como preparado total, coloração total com vermelho de congo, cortes com hematoxilina-vermelho de congo

Para exame de:	Objeto	Método
E) Vaso dorsal:		
a) vaso	lagartas dos sfingídeos (com células pericardiais externas), heteróptera (com células pericardiais internas)	hematoxilina férrica de Heidenhain-fucsina ácida
b) aorta	cabeça (coleóptero ou heteróptero)	idem
c) líquido da cavidade abdominal	principalmente favorável nas lagartas dos sfingídeos	esfregaços, safranina-verde de luz
F) Sistema nervoso:		
1. aspeto geral	lagartas dos sfingídeos, dípteros grandes (Tabanidae), heteróptera grandes, Vespidae grandes	preparação por corte dorsal, coloração com hematoxilina (Delafield)
2. ganglios da cabeça	todos os insetos, principalmente abelha de mel, heterópteros	série de cortes transversais e longitudinais, hematoxilina férrica de Heidenhain (separa com diferenciação forte a camada dos ganglios da das fibrilas), nitrato de prata-cloreto de ouro
3. órgãos sensíveis		
a) omatídeos	tisanuras	preparados totais ou cortes transversais ou longitudinais frontal, hematoxilina férrica de Heidenhain, coloração "Azan", impregnação com prata e ouro
b) ocelos	insetos voadores	
c) olhos compostos	odonatas efemerídeos coleópteros (Gyridae)	
d) órgãos timpanais	acrídeos (1.º segmento abdominal), tetigonídeos (tíbia anterior)	cortes transversais e longitudinais, hematoxilina-vermelho de congo-orange
e) órgão de Johnston	pedicelos de culicídeos	corte longitudinal, hematoxilina-vermelho de congo ou impregnação com ouro e prata com vermelho de congo
G) órgãos reprodutores	testículos e ovários de acrídeos cigarras etc.	cortes com hematoxilina, principalmente de Heidenhain
H) diafragmas	fêmur de heterópteros ou coleópteros, abdomen de odonatas	cortes transversais com hematoxilina férrica de Heidenhain, coloração "Azan"

Para exame de:	Objeto	Método
I) Corpo gorduroso	lagartas dos lepidópteros	hematoxilina-fucsina ácida, safranina-verde de luz, esfregaço fixar com ácido ósmico ou coloração sem fixar com Sudan III
K) núcleos: a) núcleos ativos	hipoderme das lagartas e larvas durante a muda	hematoxilina férrica de Heidenhain, corantes de breu lacalóides
b) núcleos degenerados	hipoderme sincicial de todos os insetos (alguns dias depois da muda ou imágines)	idem
c) macronúcleos	glândulas labias e mandibulares das lagartas de lepidópteros, da abelha de mel ou Drosophila, tubos de Malpighi	idem, para cortes, para preparados totais progressivamente com hematoxilina (Delafield)
d) cromosomos	glândulas gonandotrópicas de acrídeos, lepidópteros etc., glândulas labias e cérebro da larva de Drosophila	cortes e preparados esmargaos com hematoxilina férrica, orceina, carmina e safranina

Arbeitsmethoden der entomologischen Anatomie und Histologie

von

Rudolf Barth

I. Einleitung
II. Praeparationshinweise
III. Fixierung
IV. Entwaessern
V. Einbetten
VI. Schneiden
VII. Faerben
VIII. Spezielle Fragen
IX. Literatur
X. Index
XI. Anhang

I. Einleitung.

In der Behandlung von Insekten bei morphologischen, mikroanatomischen und besonders histologischen Arbeiten ergeben sich vielfach Schwierigkeiten, da Methoden zur Anwendung kommen, die in keiner Weise fuer Insekten geeignet sind, da sie fuer den Menschen, andere Wirbeltiere und auch Wirbellose erprobt sind, nicht aber auf den voellig anders gearteten Koerperbau der Insekten uebertragen werden koennen. Da sich in interessierten Fachkreisen der Mangel eines zusammenfassenden Ueberblicks ueber die Arbeitsmethoden der entomologischen Histologie und Mikroanatomie immer mehr bemerkbar macht, wurde im Folgenden der Versuch einer solchen Darstellung unternommen.

Die hervorstechendsten unterscheidenden Mermale der Insekten im Vergleich mit anderen Tiergruppen sind: a) die kontinuierlich den gesamten Koerper einschliessende chitinige Cuticula, die oft durch Inkrusten verstaerkt und gehaertet ist, b) der Mangel eines geschlosenen Zirkulationssystems, c) das Fehlen einer echten Leibeshoehle, d) der Mangel an Bindegewebe im weitesten Sinne, wodurch die Lage der Organe in der als Mixocoelom bezeichneten Leibeshoehle nicht fixiert ist (— durch die Tracheen wird dieser Mangel funktionell teilweise wieder wett gemacht —), e) die haeufig anders geartete histochemische Reaktion der Gewebe, f) der Besitz von Organen, die den anderen

Tiergruppen fehlen, und die haeufig so klein sind, dass eine isolierte Behandlung auf groesste Schwierigkeiten stoesst.

Die im Folgenden bekannt gegebenen Methoden stellen Laboratoriumserfahrungen dar, die in den Laboratorien des zoologischen Instituts der Universitaet Bonn (Deutschland) und des Instituts Oswaldo Cruz in Rio de Janeiro (Brasilien) systematisch erprobt und mit Erfolg angewendet werden. Im Laufe der Zeit sind die einzelnen Vorgaenge zeitmaessig so weit eingeengt worden, dass die angegebenen Zeiten stets den Minimumwert darstellen. Bei Anwendung der Methoden ist — abgesehen von gewissenaft sauberer Arbeit — auf genaue Einhaltung der Vorschriften zu achten. Ganz besonderer Wert ist auf die Reinheit der Substanzen und die Genauigkeit der Zusammensetzungen, wie auch auf die stetige Beobachtung der ablaufenden Vorgaenge wie Fixierung, Entwaesserung und Faerbung zu legen. Die Methoden sind z. T. neu ausgearbeitet, z. T. Modifikationen aelterer Methoden oder solche Methoden, die fuer andere Tiergruppen im Gebrauch sind und die fuer Insekten mit gewissen Abaenderungen anwendbar sind.

Die einzelnen Methoden, Vorschriften und Hinweise sind in mehreren Gruppen zusammengefasst, werden aber durchlaufend numeriert, so dass die Aufzaehlung spaeter im gegebenen Falle zwanglos erweitert werden kann. Auf diese Weise wird eine gute indexmaessige Orientierung ermoeglicht, wie sie von Romeis in seinem hervorragenden Werk ueber Technische Mikroskopie angewendet wird.

II. Praeparationshinweise.

1. Fuer Sammlungszwecke und fuer Untersuchungen der chitinoesen Teile im weitesten Sinne genuegen zum *Toeten des Insekts* die Gase von Aether, Chloroform, Zyankali, evtl. Benzol u. a. Diese Mittel verursachen eine Kontraktion der Muskeln, die sich bei duennhaeutigen Insekten nachteilig bemerkbar machen kann (Larven, Apterygoten u. a.).

2. Da durch diese Mittel (besonders durch Cloroform) ein starker Wasserentzug in den Intersegmentalhaeuten eintritt, werden die Insekten bruechig, was eine Montage erschwert. Besser ist in diesem Falle Essigaether zu verwenden, da durch die freie Essigsaeure diese Nachteile verringert werden.

3. Fuer histologische Untersuchungen ist oftmals ein Entspannen der Muskulatur erforderlich, um die natuerlichen Masse und Strukturen zu erhalten. Die notwendige Atonie kann vor der Firierung mit einer Durchspuelung des Insekts mit Kava-Kava-Extrakt erreicht werden. Hierbei ist zu beachten, dass die injizierte Fluessigkeit Abfluss aus dem Koerper hat, da sonst durch Ueberdruck Zerreissungen eintreten.

a) Narkotisieren des Insekts mit Aether o. a.,
b) sofort injizieren, Kava-Kava-Extrakt muss 10 bis 15 Minuten einwirken,
c) anschliessend injizieren des Fixadors,
d) Weiterbehandlung nach den unten beschriebenen Methoden der Fixierung.

Loesung: 1. Kava-Kava-Extrakt: 125 cm^3 isotonische Loesung von 80° mit 7,5 g Kava-Kava-Pulver versetzen. Nach Abkuehlen auf 37° eine Messerspitze Diastase (in der gleichen Loesung aufgeschwemmt) zufuegen. 2,5 Stunden stehen lassen bei 37°, filtrieren. Der Extrakt ist nicht lange haltbar.

Loesung: 2. Isotonische Loesung: 7,5 g NaCl, 0,42 g KCl, W 0,21 g $CaCl_2$, 1 000 cm^3 H_2O (dist). Um die Bildung von unloslichem Calciumcarbonat zu vermeiden, darf $CaCl_2$ erst nach Loesung der anderen Salze zugefuegt werden. Die Loesung ist nicht lange haltbar.

4. Kann ein Durchspuelen nicht durchgefuehrt werden, so kann das geoeffnete, narkotisierte Insekt in Kava-Kava-Extrakt gelegt werden (15 Minuten lang).

5. Wird kein Kava-Kava-Extrakt verwendet, muss das mit Aether, Chloroform usw. getoetete Insekt vor der Fixierung eine Zeitlang liegen (10 Minuten bei kleineren, 20 Minuten bei groesseren Insekten), bis die anfaengliche Starre etwas nachgelassen hat. Die Extremitaeten lassen sich dann leichter beugen. Anschliessend Fixierung.

6. Untersuchung der Oberflaeche. Oft ist wegen starker Glanzlichter oder Faerbung usw. eine direkte Untersuchung mit Binocular oder Ultropak oder mit durchfallendem Licht nicht moeglich. In diesem Falle ist die Anfertigung von Replicas erforderlich. Auf die peinlichst gesaeuberte Oberflaeche wird eine duenne Schicht einer Zellulose-oder Kolophonium-oder Kollodium-Loesung aufgetragen. Nach 5-10 Minuten ist die Schicht zu einem duennen Film getrocknet, der sich leicht abheben laesst. Diese Replica stellt ein getreues Relief der Oberflaeche dar, das unter dem Mikroskop analysiert werden kann. Das Relief wird nachtraeglich plastischer, wenn man im Hochvakuum unter sehr schraegem Winkel Metalldaempfe aufstrahlt (Shadow-casting).

Loesung: Zellulose wird in einem Loesungsmittel wie Cloroform, Aether oder Azeton geloest und spaeter soweit verduennt, dass es in alle Hohlraeume und Vertiefungen fliessen kann. Die Cellulose muss einwandfrei sauber sein, das Loesungsmittel darf keine Wasserreste enthalten, da es sonst zu Truebungen der Replica kommt.

7. Entfernung von Schuppen und Haaren. Ist die Oberflaeche von Chitinteilen dicht mit Schuppen besetzt, fuehrt eine Entfernug mit Pinsel und Pinzette oft zu Zerstoerungen feiner Strukturen. In diesem

Falle wird eine etwas zaehfluesige Celluloseloesung aufgetragen. Nach Trocknen der Loesung wird der Film vorsichtig abgehoben, wobei die Schuppen und Haare mit entfernt werden (evtl. zweimalige Anwendung bei starker Behaarung). Auf diese Weise lassen sich empfindliche, zarte Lepidopterenfluegel restlos entschuppen. Zu empfehlen ist als Loesungsmittel Azeton, dass schnell verdunstet und wobei die Filmteile sich nach 5 bis 15 Minuten selbstaendig loesen und einrollen. Bei Fluegeln, besonders an den Raendern, darf man zur Verhuetung von Zerreissungen nur kleine Partien nacheinander behandeln.

Loesung: Herstellung der Celluloseloesung s. No. 6.

8. Kotballen von Insekten. Zur Demonstration der Formung der Ballen durch die Rektalfalten werden die Ballen zur Herstellung von Dauerpraeparaten:

a) auf dem Wasserbad oder im Waermeschrank getrocknet, dann
b) je nach Groesse 30 Minuten bis 2 Stunden in Benzol gelegt,
c) fuer 20 bis 40 Minuten in Azeton uebertragen,
d) einen Tag in eine duennfluessige (Konsistenz wie Glycerin) Zelluloseloesung ueberfuehrt und,
e) auf einer Glasplatte getrocknet. Hierbei muss beachtet werden, dass sich keine Tropfen der Zelluloseloesung unter dem Ballen befinden. Ist die Loesung zu dick geworden, so dass sie die Aussenseite ueberzieht, muessen die Ballen vor dem Trocknen kurz mit reinem Azeton abgespuelt werden.

Loesung: Herstellung der Zelluloseloesung s. No. 6.

9. Faerbung der Hautanhaenge. Zur Untersuchung von Schuppen, Haaren und aehnlichen Hautanhaengen ist oftmals eine Faerbung angezeigt, wenn man mit anderen optischen Hilfsmitteln, (Kontrast-Phasen-Mikroskop) nicht genuegend in den feineren Bau eindringen kann. In diesem Falle faerbt man die Anhaenge in sito mit ihrer Unterlage zusammen:

10. Ist das Objekt lebendfrisch, muss es entwaessert werden bis zum Alkohol von 96%.

a) Entfetten durch mehrmaliges Eintauchen in Aether,
b) Alkohol von 40 %, 20 Minuten,
c) Alkohol von 70 %, 20 Minuten,
d) Alkohol von 96 %, 20 Minuten,
e) Kongorotloesung, 24 Stunden,
f) Alkohol von 96 % (differenzieren),
g) Alkohol von 100 %, 1 Stunde (zweimalig),
h) Xylol, 1 Stunde (zweimalig),
i) Trocknen an der Luft (zur Beschleunigung bei 58° im Thermostat),

k) Abloesen der Anhaenge und Montage lufttrocken unter dem Deckglas, das notfalls durch Glasfaeden gestuetzt wird. Nach Beobachtung im lufttrockenen Zustand kann nachtraeglich in Kanadabalsam eingeschlossen werden:
l) Durchsaugen von Aether zwischen Deckglas und Objekttraeger zur Verdraengung der Luft,
m) Nachsaugen von Xylol bis zum Ersatz des Aethers durch Xylol,
n) Nachsaugen von sehr duennfluessigem Kanadabalsam, der evtl. spaeter nach Verdunsten des Xylols ergaenzt werden muss.

Loesung: 1 g Kongorot wird unter haeufig wiederholtem Schuetteln in 100 cm^3 Alkohol von 96 % geloest, nach 24 Stunden wird filtriert. Die Loesung ist dauerhaft, bei Konzentrationssteigerung durch Verdunsten des Alkohols muss auf die alte Menge mit Alkohol von 96 % aufgefuellt werden.

11. Ist das Objekt lufttrocken, muss es in Alkohol gebracht werden:

a) Aether zur Entfernung der Luft,
b) Xylol oder Benzol, 5 Minuten,
c) Alkohol von 100%, 10 Minuten,
d) Alkohol von 96 %, 10 Minuten,
e) weiter wie oben unter No. 10 e).

12. Soll das Objekt sogleich in Kanadabalsam eingeschlossen werden, so sind die Anhaenge in Xylol abzuloesen und in Kanadabalsam einzulegen.

13. Totalpraeparate kleiner Insekten. Einschluss nicht entwaesserter Objekte: Einschlussmittel ist reines Glyzerin (n = 1,456). Das Objekt muss vorher durch Aether entfettet sein.

a) Einlegen in H_2O (dist.),
b) Absaugen des Wassers mit Filtrierpapier,
c) Auftropfen eines Tropfens Glyzerin, dabei die Bildung von Luftblasen vermeiden. Hierzu ist zu bemerken, dass das Insekt vordem Ueberfuehren in H_2O solange in Aether zu liegen hat, bis die Luft aus den Tracheen verdraengt ist.
d) Auflegen des Deckglases, das seitlich durch Wachsfuesschen oder besser durch Glasfaeden oder Glassplitter ausreichend gestuetzt wird, damit es horizontal liegt. Glyzerin ist hygroskopisch. Als Dauerpraeparat muss das Deckglas nachtraeglich umrandet werden (s. No. 17 und 18).

14. Um staerkere Schrumpfungen beim Uebertragen in Glyzerin zu vermeiden, passiert man zarte Insekten (Larven, Apterygoten u. a.) ueber Wasser-Glyzerin-Mischungen in reines Glyzerin:

a) H_2O (dist.),
b) 5 Teile Wasser und 1 Teil Glyzerin,

c) 3 Teile Wasser und 1 Teil Glyzerin,
d) 1 Teil Wasser und 1 Teil Glyzerin,
e) reines Glyzerin.

(Dauer der Behandlung je Stufe 10 bis 30 Minuten je nach Groesse des Objekts)

15. Bei zarten Insekten empfiehlt sich haeufig eine vorhergehende einfache Totalfaerbung:

a) Entfetten in Aether,
b) Einlegen in H_2O (dist.),
c) Einlegen in Farbloesung: [1.] Neutralrot (0,1 % in H_2O (dist.)), 1 Stunde oder [2.] Methylenblau (0,1 % in H_2O (dist.)), 1 Stunde,
d) Abspuelen in H_2O (dist.),
e) wenn ueberfaerbt, kann die Farbe mit Alkohol von 70 % entzogen werden,
f) Weiterbehandlung wie in No. 14. a),

Es kann auch Haemalaun verwendet werden:

a) Aus Wasser in Haemalaun (s. No. 117), 2 bis 3 Stunden,
b) Waessern in fliessendem Wasser, 30 Minuten bis 1 Stunde,
c) Ueberfaerbung kann durch Salzsaeure (0,1 % in H_2O (dist.)) abgeschwaecht werden,
d) Neutralisieren in Natriumbicarbonat ($NaHCO_3$) 5% in H_2O) 2 bis 3 Minuten,
e) Auswaschen in fliessendem Wasser 30 Minuten bis 1 Stunde,
f) weiter wie in No. 14, a) wird Einschluss in Kanadabalsam gewuenscht, Weiterbehandlung ueber die steigende Alkoholreihe (s. No. 83 und 86).

16. Statt Glyzerin kann folgender Gummisyrup nach v. Apáthy verwendet werden (n = 1,524) : in 50 cm^3 H_2O (dist.) werden 50 g Gummi arabicum (reine Stuecke) und 50 g nicht kandierter Rohrzucker auf dem Wasserbad geloest, dann 1 cm^3 Formol hinzugefuegt. Die Masse erhaertet schnell und ist durch Waerme zu verfluessigen.

17. Umranden: Das beste Verfahren fuer kleine Objekte ist das von Romeis empfohlene Verfahren nach Zeller:

a) Das Praeparat wird auf ein kleines Deckglas gelegt und mit dem Einschlussmittel (etwa Glyzerin oder Wasser) bedeckt.
b) Umdrehen des Deckglases und Auflegen auf ein zweites, aber groesseres Deckglas, dabei muss der Raum zwischen beiden Deckglaesern vom Einschlussmittel gerade ausgefuellt sein, es darf kein Glyzerin ueberstehen. Ist dieses der Fall, muss es mit Filtrierpapier abgesaugt werden.

c) Umdrehen der beiden Deckglaeser, so dass das kleinere nach unten weist.
d) Auftropfen von Kanadabalsam auf einen Objekttraeger und auf eine Flaeche ausbreiten, die etwas kleiner als die des grossen, aber wesentlich groesser als die des kleinen Deckglases ist.
e) Auflegen der Deckglaeser auf den Objekttraeger, moeglichst horizontal, so dass alle Teile gleichmaessig Kontakt bekommen.

18. Umranden von groesseren Objekten, d.h. der Abstand zwischen Deckglas und Objekttraeger ist gross: Kaliumbichromat-Gelatine nach Ruijter (1934). In einer 38° warmen Loesung von 20 g Gelatine in 100 cm^3 geraettigtem Thymolwasser werden 10 cm^3 einer 5 % igen Kaliumbichromatloesung gut verruehrt. Die Loesung erstarrt im Dunkeln gelartig. Zum Gebrauch wird etwas dieser Masse bei 37° verfluessigt und das Deckglas hiermit mit einem Pinsel sorgfaeltig umrandet. Dann laesst man bei normaler Temperatur im Licht (!) trocknen. Durch Lichteinwirkng wird die Masse unloeslich.

19. Einschluss und Aufhellen kleiner Insekten als Totalpraeparat. Das getoetete Insekt oder auch trockenes Sammlungsmaterial wird nach Costa Lima in 10 %iger Kalilauge (K0H) oder Natronlauge (Na0H) auf dem Wasserbad erhitzt. Bei kleinen Insekten wird, um keine Zerstoerungen der Intersegmentalmembranen hervorzurufen, langsam bis auf 80° erhitzt (evtl. kann auf 5 % Lauge zurueckgegangen werden), bei groesseren Insekten bis zum Sieden. Nachdem der gewuenschte Grad der Aufweichung und Aufhellung, sowie die Zerstoerung der inneren, nicht chitinisierten Teile erreicht ist, laesst man abkuehlen und passiert durch die Alkoholreihe und Xylol in Kanadabalsam.

20. Wird eine Faerbung verlangt, kann mit Kongorot (s. No. 10) das Chitin im Alkohol von 96 % gefaerbt werden. Da manche Chitinteile Orange schneller als Kongorot annehmen, ist in manchen Faellen eine differente Faerbung mit dem Gemisch Kongorot-Orange GG (s. No. 132) zu erreichen.

21. Mazeration groesserer Insekten. Zu der unter No. 19 verwendeten Kalilauge empfiehlt sich ein Zusatz von 1 % Chloralhydrat. Genuegt nach dem Erhitzen die Aufhellung nicht, kann mit verduenntem Perhydrol gebleicht werden. Verduennung des Perhydrols (H_2O_2) mit Wasser bis auf 3 bis 10 % je nach Staerke der Pigmente. Das Bleichen kann sich ueber einige Tage hinausziehen. Bei laengeren Liegen in der Mischung beginnt die mazerierende Wirkng.

22. Bleichen von Pigmenten (s. auch No. 19, 21 und 23): Objektgroesse 3 mm.

a) Einlegen in Bleichfluessigkeit, Kontrollieren bis der gewuenschte Grad erreicht ist.

b) Neutralisieren in 1 %iger Essigsaeure 10 bis 30 Minuten,
c) Fliessendes Wasser 30 Minuten,
d) Auswaschen in H_2O (dist.) 30 Minuten,
e) Alkoholreihe bis Xylol und Kanadabalsam.

Loesung: Bleichfluessigkeit: 3 %ige Perhydrolloesung und 0,5 % K0H in H_2O (dist.), soll spaeter gefaerbt werden, nimmt man statt K0H 1 % Natriumphosphat (Na_2HPO_4).

23. Bleichen mit Diaphanol, gleichzeitig Aufweichen des Chittins. Da eine Behandlung mit Diaphanol (= Chlordioxydessigsaevre) zumeist eine mehr oder weniger starke Zerstoerung der Gewebe zur Foege hat, ist die Verwendung von Chlordioxydsalpetersaeure zu empfehlen, die schonnender arbeitet.

Anwendung:

a) Nach Fixierung wird das Objekt bis zum Alkohol von 96 % gefuehrt und dann in Alkohol von 65 % gebracht,
b) Einlegen in Chlordioxydsalpetersaeure im Dunkeln bis Entfaerbung der Pigmente bezw. Aufweichung des Chitins eingetreten ist (der Vorgang kann einige Wochen in Anspruch nehmen). Hat sich die Fluessigkeit entfaerbt, ist sie durch frische zu ersetzen,
c) Uebertragen in ein Gemisch von 2,5 %iger Natriumtiosulfat und 5 %iger Natriumnitratloesung (in Wasser) fuer 24 Stunden (mehrmals wechseln),
d) Auswaschen in fliessendem Wasser 3 Stunden,
e) Alkoholreihe bis zum Xylol.

Loesung: Herstellung von Chlordioxydsalpetersaeure: unmittelbar vor Gebrauch werden 10 Teile einer waesserigen Chlordioxydloesung mit 1 Teil offizin. Salpetersaeure (= 25 %ig, Sp. Gew. 1,145 — 1,148, entsprechend 18,5° Bé) gemischt.

Chlordioxyd erhaelt man nach Moller:

a) In ein Praeparatenglas von 2 000 cm^3 Inhalt kommen 220 cm^3 H_2O (dist.),
b) in ein Becherglas von 100 cm^3 Inhalt kommen 12 cm^3 H_2O (dist.) dazu (langsam und umruehren!) 22 cm^3 conz. H_2SO_4,
c) erkalten lassen,
d) zu b) kommen 12 g Kaliumchlorat ($KClO_3$) (Vorsicht, explosiv!),
e) das offene Becherglas wird in das grosse Glas gesetzt, das Ganze sehr gut (mit Paraffinoel) abgedichtet und im Dunkel 24-36 Stunden aufbewahrt,

f) das in dem Becherglas entstehende CO_2 ist im Wasser des grossen Glases geloest, die Farbe dieser Chlordioxydloesung ist tiefgoldgelb,
g) Aufbewahren in Glasschlifflasche und im Dunkeln!

24. Aufhellen (Spalteholzverfahren): Bei diesem Verfahren ist die Anwendung von Unterdruck besonders zu empfehlen.

a) Fixierung in Formol, Alkohol, Carnoy u. a., moeglichst nicht in Fixadoren mit Osmiumsaeure oder Sublimat. Eine ausreichende Fixierung ist Vorbedingung fuer ein gutes Ergebnis, Ueberfixierung schadet dagegen nichts. Zu empfehlen ist die Carnoy'sche Fluessigkeit.
b) Auswaschen in H_2O (idst.)
c) Bleichen in H_2O_2 von 5 — 20 % je nach Staerke der Pigmente. Das H_2O_2 muss mit $LiCO_3$ NaOH oder NH_3 neutraliesiert werden. Bleichen bis die Pigmente zerstoert sind. Ist das Ergebnis unzureichend, kann mit Diaphanol gebleicht werden.
d) auswaschen, entwaessern (sehr sorgfaeltig!) bis zu reinem Benzol.
e) Aufhellungsfluessigkeit nach Spalteholz, Dauer je nach Groesse der Stuecke. Der Vorgang muss von Tag zu Tag kontrolliert werden, er kann durch Einstellen in einen Thermostaten mit 40°-45° beschleunigt werden.

Loesung: Wintergruenoel (= Methylsalicilat) und Benzylbenzoat im Verhaeltnis 4 : 1.
Empfehlenswert ist eine gleichzeitige, schwache Totalfaerbung kleinerer, zarter Objekte. Hierzu wird dem 70 %igen Alkohol 1 cm^3 einer 1 %igen Loesung von Toluidinblau auf 100 cm^3 Alkohol zugesetzt. Das Objekt bleibt 24 Stunden in dieser Loesung. Der folgende 96 %ige Alkohol wird durch eine 1 %ige Loesung von Kongorot in Alkohol von 96 % ersetzt.

25. Aufhellen. Gute Ergebnisse erhaelt man auch, wenn man an Stelle der Aufhellungsfluessigkeit nach Spalteholz in Punkt 24 e) ein Gemisch zu gleichen Teilen von Anilinoel, Nelkenoel und Terpinol nimmt.

26. Konservierungsfluessigkeiten zur Erhaltung natuerlicher Farben: Die ueblichen Methoden fuer die Konservierung von Museumsmaterial koennen auch fuer Insekten in gewissem Grad verwendet werden. Geeignet fuer Raupen, Puppen usw., auch fuer Spinnen.

Vor dem Einglegen in die Praeparierungsfluessigkeit muessen die Tiere in Aether entfettet werden. Die in ihnen enthaltene Luft zieht man vorteilhaft mit der Wasserstrahlpumpe heraus, dadurch wird gleichzeitig die Durchdringung beschleunigt und intensiviert. Auch bei der Durchdringung mit der Konservierungsfluessigkeit ist Unterdruck anzuraten.

Methode nach Klotz:
Praeparierungsfluessigkeit:
Auf 200 cm^3 H_2O (dist.) kommen:

Aceton	3 cm^3
Chloralhydrat	4 g
Formol (40 %)	6 cm^3
Natriumbicarbonat	1 g
Natriumchlorat	1 g

Hierin bleiben kleinere Objekte lo Tage, groessere 15 Tage. Die Fluessigkeit soll das 20 fache Volumen der Objekte nicht unterschreiten.
Konservierungsfluessigkeit:
auf 200 cm^3 H_2O (dist.) kommen:

Aceton	3 cm^3
Chloralhydrat	2 g
Formol (40 %)	1,5 cm^3
Natriumbicarbonat	1 g
Natriumchlorat	1,5 g.

Methode nach Jorres:
(siehe auch Vorbemerkung zur vorigen Methode.)
Praeparierungsfluessigkeit:
auf 200 cm^3 H_2O (dist.) kommen:

Karlsbadersalz (kuenstliches)	6,25 g
Chloralhydrat	6,25 g
Formol (40 %)	6,25 cm^3

Hierin bleiben kleine Stuecke 2 Tage, groessere bis zu 8 Tagen. Danach auswaschen in H_2O (corr.) 12 Stunden oder mehr und ueberfuehren in Konservierungsfluessigkeit:

auf 200 cm^3 H_2O (dist.) kommen:

Rohrzucker	62,5 g
Kaliumacetat	4 g
Kaliumsulfat	2 g

Kuenstliches Karlsbadersalz hat folgende Zusammenstellung:

Natriumsulfat	11 g
Natriumbicarbonat	10 g
Natriumchlorat	9 g
Kaliumazetat	19 g
Kaliumsulfat	1 g

27. Sezieren eines Insekts: Die Sektion eines Insekts, besonders eines kleineren nimmt viele Stunden, evtl. Tage in Anspruch. Wer es eilig hat, mache erst garnicht den Versuch, da er doch zu keinem Ziel kommt. Stoerende Hautanhaenge und die Gliedmassen werden, soweit es moeglich ist, abgetrennt. Es folgt die Oeffnung des Koerpers. Diese kann nie durch einen ventralen Schnitt erfolgen, da damit das Nervensystem zerstoert wird. Die Oeffnung ist je nach dem verfolgten Zweck durch einen Schnitt laengs der Dorsallinie oder einer der Lateral-linien vorzunehmen. Z.B. laeuft der Schnitt bei einer Raupe bis zur Kopfkapsel, bei einem Vollinsekt bis zum Metathorax und von hier in der Verbindungshaut zwischen Thorax und Abdomen bis zu den Laterallinien bei einem dorsalen Schnitt, bis zur anderen Laterallinie bei einem lateralen Schnitt. Haeufig empfiehlt sich ein Schnitt durch beide Laterallinien (besonders bei Kaefern und Wanzen). Das Abheben der Dorsalplatte erfolgt vorsichtig in Wasser (oder in isotonischer Loesung, wenn die Objekte spaeter histologisch untersucht werden sollen). Hierzu nadelt man das Insekt in einer Sezierschale mit nichtrostenden Nadeln in der Weise fest, dass die schraeg gesteckten Nadeln moeglichst wenig beim Sezieren hindern.

28. Herstellung von Praeparierschalen. Als Schale benuetzt man am vorteilhaftesten eine schwarz lakierte Metallschale oder eine solche aus nicht oxydierbarem Metall mit schraegen Raendern (Grundflaeche 10 : 15 cm, Tiefe 7 cm), die Raender soweit nach aussen geneigt, dass die oberen Kantenlaengen 20 bzw. 25 cm betragen. Auf den Grund der Schale legt man eine Lage von 2 cm dickem Torf, darauf giesst man solange Paraffin, dem man 10 % Gummiloesung zugesetzt hat, bis der Torf getraenkt ist und eine Schicht von 1 cm Paraffin darueber steht (auf dem Wasserbad). Bilden sich stoerende Luftblasen, muss mehrmals erwaermt werden.

Loesung: Gummiloesung: Naturgumi (nicht vulkanisiert) wird zerschnitten und davon soviel in Chloroform aufgeloest, bis die Loesung gerade noch filtrierbar ist. Das Filtrat wird im vorgeschriebenen Prozentsatz dem fluessigen Paraffin zugesetzt und die Mischung in einer weit offenen Schale solange auf dem Wasserbad erhitzt, bis der Chloroformgeruch verschwunden ist. Das Paraffin hat gelbbraeunlichen Farbton. (Zur Herstellung von Praeparierschalen kann verunreinigtes Paraffin benuetzt werden)

29. Soweit wie moeglich legt man die inneren Organe auseinander und entfernt die groesseren, nicht benoetigten Teile (wie Tracheen oder Fettkoerper), ohne andere Organe zu zerreissen. Hiernach fixiert und faerbt man in einem Gang. Je nach dem verfolgten Zweck besteht die benoetigte Fluessigkeit aus verschiedenen Komponenten:

30. Als Stammfluessigkeit verwendet man 80 cm^3 Alkohol von 60 % mit 10 cm^3 Formol.

31. Hierzu fuegt man 5 cm^3 Neutralrot (1 %ig in H_2O) und 2 cm^3 Methylenblau (1 %ig in Wasser) oder 1 cm^3 Brillantgruen (1 %ig in Wasser). Dauer 20-30 Minuten. Die ueberfaerbten Praeparate werden mit Alkohol von 96 % differenziert. Diese Methode genuegt fuer Uebersichtspraeparate.

32. Fuer Praeparation feiner Organteile besser geeignet ist folgende Zusammenstellung, die langsamer arbeitet, aber gleichmaessiger alle Organe, auch tiefer gelegene, faerbt:

90 cm^3 Alkohol von 60 %, 5 cm^3 Formol, 1 cm^3 Neutralrot (0,5 %ig in H_2O) 1 cm^3 Methylenblau (0,5 %ig in H_2O) oder 1 cm^3 Brillantgruen (0,5 %ig in H_2O). Dauer 1-2 Tage, anschliessend differentieren in Alkohol von 40 %.

33. Zur speziellen Faerbung der Fettkoerper wird das sezierte Objekt mit einer gesaettigten Loesung von Sudan III in Alkohol von 70 % uebergossen.

34. Zur distinkten Faerbung der Muskeln verwendet man einen Zusatz von 5% Orange GG (gesaettigte Loesung in H_2O) zur Stammfluessigkeit.

III. Fixierung.

35. Allgemeines: Ueber die Grundlagen der Fixierung, ausgehend von verschiedenen Gesichtspunkten, s. Zeiger (1938), Werner (1934-1937) und Seki (1937).

36. Fuer histologische und cytologische Zwecke darf man sich nie mit einer Fixierung zufrieden geben, sondern muss verschieden geartete Methoden verwenden, da die unterschiedlichen Gemische die feineren plasmatischen Strukturen in variirender Weise darstellen. Auf zuverlaessige und exakte Fixierung ist groesster Wert zu legen, da sie die Grundlage fuer die spaetere Faerbung darstellt.

37. Schaeden, besonders schlechte Faerbbarkeit, die durch Verwendung ungeeigneter Fixierungsmittel entstanden sind, koennen durch eine Nachfixierung in gewissen Faellen verringert werden.

38. Zumeist kommen Fluessigkeitsgemische als Fixadore in Frage, selten einzelne Fluessigkeiten fuer sich alleine.

39. Folgende Gemische von Fluessigkeiten haben sich fuer Insekten als geeignet erwiesen:

geeignet fuer:	Fluessigkeit nach:
Uebersichtsbilder	Carnoy, Bouin, Gilson, Susa n. Heidenhain, Zenker
Kerne	Carnoy, Bouin, Flemming, Gilson
Cytoplasma	Carnoy, Bouin, Flemming
fibrillaere Strukturen	Susa n. Heidenhain
Nerven	Mueller, Burke, Orth
Fette und Oele	Flemming
Ausstriche	reine Dsmiumsaeure in Dampfform, Susa n. Heidenhain
Eier, Embryonen	Carnoy, Bouin, P. Mayer
Chitin	Petrunkewitsch

40. Praktische Durchfuehrung der Fixierung: Das getoetete Insekt muss vor der Fixierung aeusserlich entfettet werden, da durch die oft anhaftenden Fette und Wachse ein Eindringen der Fluessigkeiten erschwert wird. Hierzu wird das Insekt mehrmals kurz in Aether getaucht. Gleichzeitig wird durch den Aether die anhaftende Luft und ein Teil der Luft in den Tracheen verdraengt. Das noch vom Aether feuchte Insekt wird in die Fiexierungsfluessigkeit gelegt.

41. Da beim Fixieren sich schwere Fluessigkeiten am Boden des Gefaesses, leichte an der Oberflaeche des Fixadors ansammeln, muss das Objekt entweder auf einen Watte-oder Gasebausch gelegt werden oder aber in der Mittelschicht aufgehaengt werden. Vorteilhaft sind Glasroehrchen verschiedener Weite, die an einem Ende mit einer grossmaschigen Gase verschlossen sind. Am anderen Ende wird ein nichtrostender Draht an einer angeschmolzenen Oese befestigt. Auf diese Weise kann austretende Fluessigkeit abfliessen und der Fixador hat von allen Seiten freien Zutritt zum Objekt. Nebenbei wird das Ueberfuehren in andere Fluessigkeiten erleichtert. Beim Ueberfuehren achte man darauf, dass moeglichst wenig Reste der ersten Fluessigkeit in die zweite gelangen.

42. Handelt es sich um groessere Insekten, so muss nach einiger Zeit das Objekt wieder herausgenommen werden, um es zu zerschneiden, damit der Fixador schneller und gleichmaessiger eindringen kann. Ein Zerschneiden vor der Fixierung ist zu vermeiden, da es hierbei zu Verlusten von Organen oder Organteilen oder aber zu Verlagerungen kommt. Erst wenn eine oberflaechliche Fixierung erfolgt ist, kann gefahrlos zerschnitten werden. Man verwende keine Schere, um Quetschungen zu verhueten, sondern scharfe Rasierklingen.

43. Zur Fixierung ganzer Insekten ueber 1 cm Koerperlaenge ist eine Injektion mit dem Fixador angebracht. Um Zerreissungen zu vermeiden, darf nur soviel Fluessigkeit injiziert werden, bis die Segmenthaeute sich zu spannen beginnen. Wenn man fuer Abfluss der Fluessigkeit sorgt, kann die Leibeshoehle durchspuelt werden.

44. Das Injizieren darf nur langsam durchgefuehrt werden, damit die Tugormuskulatur Zeit hat, der neuen Spannung durch langsames Erschlaffen zu folgen.

45. Soll ein grosses Insekt als ganzes fixiert werden und ist eine Injektion nicht angebracht, so ist vorteilhaft als Fixador nur eine einzelne Fluessigkeit, nicht ein Gemisch, anzuwenden. Bei Gemischen eilt eine Komponente zumeist betraechtlich voraus, so dass im Inneren diese Komponente, in den aeusseren Teilen die andere zur Auswirkung kommt. Z. B. wird bei Fixierung mit Flemming'scher Fluessigkeit das Innere eines groesseren Objektes vornehmlich durch die Essigsaeure, die aeusseren Teile mehr durch das langsamer diffundierende Osmiumtetroxyd fixiert.

46. Die Fixadore sollen nicht zu sehr ausgenuetzt werden, sondern sind haeufig zu erneuern. Dies trifft besonders fuer solche Gemische zu, zu denen schnell fluechtige Komponenten verwendet werden, da durch die Verdunstung das Mischungsverhaehaeltnis verschoben wird.

47. Das Verhaeltnis von Objektgroesse zur Fluessigkeitsmenge darf 1 : 10 (bei Flemming'scher Fluessigkeit 1 : 5) nicht unterschreiten. Zu empfehlen ist ein mehrmaliges Bewegen der Objekte, damit die Fluessigkeit gleichmaessig an sie herantreten kann, doch ist ein Umruehren der sich am Boden des Glases absetzenden, aus dem Objekt ausgetretenen Stoffe zu vermeiden.

48. Fixierung durch Gase: Fuer kleine Objekte wie Darminhalt, Membranen, Austriche, duenne Gewebsteile u. a. koennen Gase von Osmiumsaeure (Osmiumtetroxyd, $0s0_4$), Formaldehyd oder Jod benuetzt werden. Die Fixierung geht schnell vor sich, ist aber nicht fuer alle histologischen Zwecke zu empfehlen, fuer Uebersichtspraeparate und mikroanatomische Untersuchungen jedoch ausreichend.

49. Fixierung mit Gasen der Osmiumsaeure. Besonders zum Nachweis von Fetten, Oelen, Wachs u. a. zu empfehlen, die durch $0s0_4$ geschwaerzt werden. Die Formveraenderungen sind nur geringfuegig. Benuetzt wird eine 1-2 %ige Loesung in H_20 oder in Chromsaeure. Die frischen Praeparate werden, unter dem Objekttraeger haengend, Ausstriche mit der Oberseite nach unten, auf eine kleine Glasschale mit $0s0_4$ gelegt, so dass das Objekt etwa 1 cm ueber der Fluessigkeit (wenige Tropfen genuegen) steht. Die Schale muss evtl. durch andere leere Objekttraeger abgedichtet sein. Einwirkung der Gase fuer Ausstriche und andere duenne Praeparate 1-2 Minuten, fuer dickere Praeparate 1-3 Stunden. Vorsicht, die Gase sind giftig.

Loesung: Herstellung der $0s0_4$-Loesung: Um Reduktion der Osmiumsaeure durch Verunreinigung mit organischen Bestandteilen zu vermeiden muss bei der Loesung der Kristalle Staub und jede Verunreinigung vermieden werden. Besser als in H_20 (dist.) haelt sich $0s0_4$

in einer 0,1 %igen Chromsaeureloesung (Romeis): 0,1 g Chromsaeure in 100 cm^3 H_20, nach Loesung 1 oder 2 g (= 1 % oder 2 %) $0s0_4$ hinzufuegen: Die sorgsam gesaeuberte Ampulle, in der $0s0_2$ auf den Markt kommt, wird in der Mitte angeritzt und zerbrochen und dann mit den Kristallen in die Chromsaeure gelegt. Die Aufloesung erfordert einige Stunden.

50. Fixierung mit Joddaempfen: In einem Reagenzglas werden einige kleine Jodkristalle erwaermt bis das Glas voll Joddaempfe ist (Joddampf ist schwerer als Luft und braungefaerbt). Die Daempfe lassen sich auf das in einer Schale liegende Objekt giessen. Einwirkungsdauer 2-3 Minuten. Danach muss zur Vertreibung des freien Jods das Objekt fuer 2-3 Minuten auf 40° erwaermt werden.

51. Fixierung mit Gasen von Formaldehyd (etwa 40 %ige Loesung von Formaldehyddaempfen in H_2O = Formol): Ein mit unverduenntem Formaldehyd getraenktes Stueck Filtrierpapier wird zu dem Objekt in eine verschlossene Glasschale gelegt. Die Daempfe benoetigen eine halbe bis eine Stunde zur Fixirung. Die Zeit kann auf ein Drittel reduziert werden, wenn man die Fixierung im Eksikator durchfuehrt, der im Thermostat auf 60° erhitzt ist.

52. Alkohol: Wenn nicht anders vermerkt, handelt es sich im Folgenden ausschliesslich um reinen, unvergaellten Aethylalkohol.

53. Alkohol wirkt durch Wasserentzug stark schrumpfend, loest Fette, fettartige Stoffe, zahlreiche Sekrete, Cholesterine und chromaffine Substanz. Er ist chemisch weitgehend indifferent und fixiert, was mit anderen Fluessigkeiten schlecht oder garnicht gelingt, u. a. Harnsaeure, Glycogen, Eisen, Kalzium und Mucin. Plasma schrumptf stark, Kern ebenfalls, wenn auch etwas schwaecher. Die Faerbbarkeit ist fuer fast alle Methoden gut, die Schneidbarkeit weniger gut.

54. Anwendung: Objekte nicht dicker als 5 mm. Wenn moeglich, sind chitinige Teile und Muskeln vorher zu entfernen, da diese durch Wasserentzug sehr sproede werden. Fixierte Objekte koennen in 80 %igem Alkohol aufbewahrt werden. Besser und schneller als absoluter Alkohol dringt der kaeufliche "absolute Alkohol", der immer 1-2, manchmal sogar 3 % H_20 enthaelt, in die Gewebe ein. Dauer der Fixierung bei kleinen Objekten und zerschnittenen Insekten 2-3 Stunden, sonst 4-5 Stunden.

55. Sublimat: Wirkt fuer sich allein stark schrumpfend auf das Plasma, weniger auf den Kern. Besonders zur Faellung von Eiweiss zu empfehlen, Lipoide u. a. werden geloest. Sublimat dringt schnell ein, doch verlagsamt sich das Eindringen durch die entstehenden Faellungsprodukte. Verwendet wird, um die Schrumpfung zu verringern, nicht die gesaettigte sondern die halbgesaettigte, waessrige Loesung. Dauer

bei kleinen Objekten und zerschnittenen Insekten 3-4 Stunden, sonst 6-8 Stunden.

Loesung: Gesaettigte Loesung in H_2O: 250 cm^3 H_2O (dist.) werden in einem 1 Literkolben zum Kochen gebracht. Nach Abstellen der Flamme fuegt man langsam 15 g Sublimat (Quecksilberchlorid) hinzu, oefter waehrend des Erkaltens umschwenken. Das H_2O muss rein sein! Zum Fixieren wird auf die Haelfte mit H_2O (dist.) verduennt.

56. Formol: Das kaeufliche Formol entspricht einer etwa 40%igen Loesung des Gases von Formaldehyd in H_2O. Da das handelsuebliche Formol stets sauer reagiert (Ameisensaeure), muss es fuer bestimmte Methoden neutralisiert werden, wenn es nicht als Standardpraeparat bezogen werden kann. Formol ist vor Licht zu schuetzen.

57. Neutralisieren des Formols: In einer braunen Flasche wird zu Formol gepulvertes Kalziumkarbonat gegeben und oefter geschuettelt und mit dem Karbonat aufbewahrt. p_H etwa 6,5.

58. Formol dringt schnell in die Gewebe, haertet relativ geringfuegig, die Schrumpfung betraegt etwa 5-8 %, erreicht aber bei der Nachbehandlung 25 %. Fette und Lipoide und damit auch Nerven werden gut fixiert. Nicht zu verwenden ist Formol fuer die Fixierung von Kernen, Harnsaeure, Glycogen und Guanin.

59. Verduennung des Formols: Um Irrtuemer zu vemeiden, werden im Folgenden die Anteile von Wasser und Formol und der Prozentgehalt des Formols angegeben: Z. B. Formol (40 %) 1 : 3 = 1 Teil 40 %iges Formol in 3 Teilen Wasser. Um die schwachsaure Reaktion zu vermindern, wird zum Verduennen stets Brunnenwasser verwendet.

60. Nachfixierungen nach reiner Formolfixierung ist mit den gebraeuchlichen Gemischen moeglich.

61. Niederschlaege von Formol, die vorkommen koennen, lassen sich durch Einstellen der Schnitte in eine 2,5 %ige Loesung von Salmiakgeist (NH_4OH) in 70 %igem Alkohol beseitigen.

62. Bei Kombination mit anderen Fluessigkeiten darf Formol erst vor Gebrauch hinzugefuegt werden, um Zersetzungen zu vermeiden.

63. Essigsaeure: Allein nur in Sonderfaellen anzuwenden Sie loest teilweise das Plasma und fuehrt zu Quellungen, fixiert dagegen bei Verwendung von 1 %iger Loesung in H_2O Kernteile recht gut. Dauer 1-2 Stunden, bei groesseren Objekten bis 4 Stunden.

64. Unter Essigsaeure wird die 96 %ige Loesung in H_2O, unter Eisessig die 100 %ige Essigsaeure verstanden.

65. Nach Fixierung mit Essigsaeure muessen die Praeparate sofort in Alkohol von 70 % ueberfuehrt werden, um Quellungen zu vermeiden.

66. Osmiumsaeure: Wegen seiner geringen Difusionsgeschwindigkeit wird OsO_4 nur selten allein angewandt. Da OsO_4 durch organische Substanz leicht reduziert wird, empfiehlt Romeis eine Loesung in 0,1 %iger Chromsaeure (s. No. 49). Diese Loesung ist gut verschlossen haltbar (unbedingt ist neutrales Glas zu verwenden — Pyrex-Glas oder Jenaer-Glas).

67. $0s0_4$ fixiert die Zellstrukturen sehr gut, die Schrumpfung ist gering. Fette und Lipoide werden stabilisiert und braun bis schwarz gefaerbt.

68. Fuer Ausstriche und Membranen verwendet man vorteilhaft die Gasform (s. No. 49).

69. Herstellung der Loesung s. unter No. 49.

70. Die geschwaerzten Fette koennen mit Kaliumpermanganat, Oxalsaeure oder Wasserstoffsuperoxyd gebleicht werden.

71. Alkohol-Eisessig: 20 cm^3 Eisessig in 100 cm^3 absolutem Alkohol. Dringt schneller ein als Alkohol. Die Schrumpfung ist etwas geringer als bei Alkohol allein. Als Nachteil tritt eine teilweise Aufloesung der plasmatischen Strukturen ein, daher nur in Sonderfaellen zu verwenden. Dauer 2-5 Stunden je nach Groesse des Objekts. Dann auswaschen in absolutem Alkohol 20-30 Minuten.

72. Carnoy'sches Gemisch: Zusammensetzung: 6 Teile absoluter Alkohol, 3 Teile Chloroform, 1 Teil Eisessig. Die Objekte brauchen vorher nicht entfettet zu werden, da Chloroform die Fette loest. Dauer 1 — 2 Stunden, fuer groessere Objekte bis 5 Stunden. Laengeres Liegen in "Carnoy" schadet in sofern, als fetthaltige Substanzen staerker extrahiert werden und die Faserstrukturen haeufig verquellen, besonders wenn durch Verdunsten des Chloroforms und Alkohol der Gehalt an Essigsaeure ansteigt. Die Loesung muss jedesmal frisch hergestellt werden, da durch Verdunsten die Konzentrationen schnell verschoben werden. Nach Fixierung sofort in Alkohol von 96 % auswaschen. (Zweimal wechseln, besonders vor Faerbung mit Haematoxylinen).

73. Orth'sches Gemisch: Besonders zur Fixierung der Nervensubstanz. Zusammensetzung: 2,5 g Kalimbichromat in 100 cm^3 H_2O als Stammloesung, der man unmittelbar vor Gebrauch 10 cm^3 Formol zusetzt. Fixierung im Dunkeln 24-48 Stunden. Dann auswaschen in fliessendem Wasser 24 Stunden, entwaessern ueber Benzol. Niederchlaege der chromhaltigen Fluessigkeiten werden durch Einlegen vor der Entwaesserung in 0,5 %ige Chromsaeure entfernt.

74. Flemming'sche Fluessigkeit: Zusammensetzung: Stammloesung: 0,5 g $0s0_4$ werden in 120 cm^3 einer 0,1 %igem Chromsaeure geloest. Zu 19 cm^3 dieser Loesung setzt man kurz vor Gebrauch 1 cm^3 Eisessig. Die Loesung dringt langsam ein, es koennen nur kleine Stuecke (1-3 mm Dicke) fixiert werden. Dauer 24 Stunden bis zu einigen Tagen. Selbst monatelanges Liegen ist nicht von Nachteil. Danach Auswaschen in fliessendem Wasser 24 Stunden, entwaessern ueber Benzol.

75. Bouin'sche Fluessigkeit: Die von Bouin angegebene Mischung dringt wegen Mangel an Alkohol nur langsam in Insekten ein. Besser ist die Modifikation von Duboscq — Brasil (1905): Zusammensetzung: 1 g Pikrinsaeure in 150 cm^3 Alkohol von 80 %, zu dieser Stammloesung setzt man vor Gebrauch hinzu: Formol (40 %) 60 cm^3 und Eisessig 15 cm^3. Dauer je nach Groesse der Objekte 2-24 Stunden, tagelanges Liegen in diesem Fixador hat keine nachteiligen Folgen. Auswaschen direkt in 80 %igem Alkohol, der mehrmals zu wechseln ist.

76. Pikrin-Salpetersaeure nach P. Mayer: Dringt schnell ein, besonders fuer Untersuchung des Chitins geeignet, da das Chitin bis zu einem gewissen Grad desinkrustiert wird. Zusammensetzung: 100 cm^3 H_20, 5 cm^3 Salpetersaeure ($HN0_3$ vom spez. Gew. 1,153) und Pikrinsaeure (in Substanz) bis zur Saettigung. Nach 24 Stunden filtrieren. Bildet sich weiterhin Niederschlag, muss nach 24 bis 48 Stunden nochmals filtriert werden. Das klare Filtrat fixiert kleine Insekten in 3-6 Stunden, grosse in 12 Stunden. Auswaschen direkt in 70 %igem Alkohol.

77. Gilson'sche Fluessigkeit: Dringt schnell ein und fixiert sehr gleichmaessig. Zusammensetzung: Sublimat 20 g, Alkohol von 60 % 100 cm^3, H_20 (dist.) 880 cm^3, Salpetersaeure (spez. Gew. 1,456) 15 cm^3, Eisessig 4 cm^3.

a) Entfetten des getoeteten Insekts,
b) fixieren, Dauer 1-3 Stunden, groessere Objekte bis 5 Stunden.
c) Alkohol von 70 % mit 5-6 Tropfen Jod-Jodkaliloesung (zur Beseitigung der "Sublimatniederschlaege"), evtl. laesst sich auch alkoholische Jodtinktur verwenden,
d) Alkoholreihe und Benzol bis Paraffin.

Die Schnitte muessen nach dem Aufloesen des Paraffins in Alkohol von 70 % nochmals fuer 1 Minute mit Jod (s. oben unter c)) behandelt werden, zur Entfernung des Jods muessen die Schnitte unbedingt fuer 2-3 Minuten in eine 0,25 %ige Loesung von Natriumthiosulfat gestellt werden. Letztere Loesung muss laufend erneuert werden.

Loesung: Jod-Jodkaliloesung: 2 g J_2 und 3 g KJ in 100 cm^3 Alkohol von 90 %.

Alkoholische Jodtinktur: 10 g Jod (metall.) in 100 cm^3 Alkohol von 90 %.

78. Zenker'sche Fluessigkeit: Dringt relativ schnell ein, Groesse der Objekte moeglichst nicht ueber 5 mm. Zusammensetzung: Kaliumbichromat 3 g in 100 cm^3 H_2O (dist.), dazu 5 g Sublimat. Zu dieser Stammloesung fuegt man vor Gebrauch 5 cm^3 Eisessig. Fixierung 1-24 Stunden je nach Groesse des Objektes, Auswaschen in fliessendem Wassen 24 Stunden und Alkoholreihe mit Jodzusatz in Alkohol von 70 % (s. No. 77). Die Schnitte muessen wie bei der Fixierung nach Gilson behandelt welden.

79. "Susa" nach Heidenhain: Diese Methode entkalkt durch den Zusatz von Trichloressigsaeure, fuer Insekten mit starken Inkrusten besonders zu empfehlen. Zusammensetzung: Sublimat 4,5 g, Kochsalz (chemisch reines NaCl) 0,5 g, H_2O (dist.) 80 cm^3, Trichloressigsaeure 2 g, Eisessig 4 cm^3, Formol (40 %) 20 cm^3.

a) Fixierung je nach Groesse 1-24 Stunden,
b) Alkohol von 90 % 2-3 mal wechseln,
c) Alkohol von 70 % mit Jodzusatz (s. No. 77),
d) entwaessern.

Nachbehandlung der Schnitte wie in No. 77.

80. Petrunkewitsch' Fluessigkeit: Eignet sich wie die Gilson'sche fuer Chitin, aber auch fuer Eier und Embryonen. Zusammensetzung: H_2O (dist.) 300 cm^3, absoluter Alkohol 200 cm^3, Eisessig 90 cm^3, Salpetersaeure (spez. Gew. 1,456) 10 cm^3, Sublimat bis zur Saettigung. Anwendung wie unter No. 77, nur ist bei Anwendung auf Eier, Embryonen, Puppen und aehnliche Objekte die Fixierungsdauer zu verdoppeln.

81. Fuer die Fixierung der Nervensubstanz eignet sich besonders das Gemisch nach Burke: Zusammensetzung: H_2O (dist.) 75 cm^3, Formol (40 %) 25 cm^3, Pyridin (pur.) 5 cm^3. Die Fluessigkeit soll ueber das 20 fache Volumen des Objektes haben.

a) Fixierung 48 Stunden bis einige Wochen, langes Liegen schadet nichts,
b) auswaschen in Alkohol von 90 %,
c) entwaessern.

IV. Entwaessern.

82. Da bei Insekten der Ersatz des Wassers in den Geweben durch Alkohol sich nur sehr langsam und selten vollstaendig vollzieht, kann mit der fuer weiche oder mehr oder weniger homogene Gewebe ueblichen und ausreichenden Methode nicht gearbeitet werden. Kleine Reste von Wasser (besonders im sproeden Chitin) beeintraechtigen die

Schneidbarkeit des Objektes so sehr, dass nur Bruchstuecke erhalten bleiben| Besonders vergroessert wird diese Gefahr durch den absoluten Alkohol, der — wenn schon 100 %ig — bereits nach wenigen Stunden so viel Wasser aus der Luft aufgenommen hat, dass eine volle Entwaesserung nicht moeglich ist. Die Umgehung des absoluten Alkohols ist ein altes Problem der Histologie, das ueber verschiedene Umwege (Dioxan, Methylbenzoat u. a.) geloest wurde. Fuer Insekten ergaben sich mit den empfohlenen Methoden immer noch Schwierigkeiten bezgl. der Schneidbarkeit von Teilen des Endoskeletts, in denen immer noch Reste von Wasser zurueck blieben, da die Zwischenfluessigkeiten nicht den Alkohol mit den Wasserresten voellig entfernen konnten.

83. Die derzeitige Methode, mit der sich auch haerteste Insekten in lueckenloser Serie schneiden lassen, ist die folgende, die Kisser (1929) fuer botanische Objekte in aehnlicher Form anwandte:

Nach Fixierung in waessrigen Fixadoren:

a) H_2O (dist.) 6 Stunden,
b) Alkohol von 40 % 4 Stunden,
c) Alkohol von 60 % 4 Stunden,
d) Alkohol von 70 % 12 Stunden,
e) Alkohol von 96 % 12 Stunden,
f) Alkohol von 98 % (entspricht der Handelsware des absoluten Alkohols) 24 Stunden,
g) Alkohol von 98 % 3 Teile und Benzol 1 Teil 12 Stunden,
h) Alkohol von 98 % 1 Teil und Benzol 1 Teil 12 Stunden,
i) Alkohol von 98 % 1 Teil und Benzol 3 Teile 12 Stunden,
k) Alkohol von 98 % 7 Teil und Benzol 100 Teile 24 Stunden,
l) reines Benzol 6 Stunden,
m) reines Benzol 12 Stunden,
n) gesaettigte Loesung von Paraffin (Schmelzpunkt 56-58°) in reinem Benzol 12 Stunden,
o) reines Paraffin, fluessig im Thermostat bei 60-61° 2 Tage.

84. Die angegebenen Zeiten beziehen sich auf unzerschnittene Insekten von 5 bis 10 mm Laenge und sind Mindestzeiten, die nicht unterschritten, wohl ueberschritten werden duerfen.

85. Nach Fixierung in alkoholhaltigen Fluessigkeiten beginnt man mit der entsprechenden Alkoholstufe, z. B. nach Fixierung in Carnoy'scher Fluessigkeit direkt auswaschen in Alkohol von 98 % .

86. Sollen Praeparate nicht geschnitten werden, genuegt die "einfache" Alkoholreihe:

a) Alkohol von 40 % 2-3 Stunden,
b) Alkohol von 70 % 3-4 Stunden,
c) Alkohol von 96 %8-10 Stunden,

d) absoluter Alkohol (dem man zur Entwaesserung einige Stuecke gebrannten Kupfervitriols — $CuSO_4$ — zugibt, wodurch aber eine schwache Saeuerung eintritt. Die Entwaesserung wird auch hierdurch nie vollstaendig). Dieser Alkohol ist ein — bis zweimal zu wechseln, jeweils 12 Stunden,
e) Xylol, einmal wechseln, jeweils 12 Stunden,
f) Kanadabalsam.

Die Zeiten gelten fuer unzerschnittene Insekten von 5-10 mm Laenge.

87. Verduennung von Fluessigkeiten:

A) Gegeben ist die Loesung von a %, gesucht die von b%: zu b Teilen ersten fuegt man (a-b) Teile des Verduennungsmittels hinzu, um a Teile der b %igen Loesung zu erhalten.
B) Gegeben ist die Loesung 1 : a, gesucht ist die von 1 : b: zu a Teilen der ersten fuegt man (b-a) Teile des Verduennungs mittels, um b Teile der Loesung 1 : b zu erhalten.

88. Bei der Entwaesserung ist darauf zu achten, dass die Objekte wie beim Fixieren (s. No. 41) etwa in der Mitte der Fluessigkeit aufgehaengt sind, zumindest aber auf einer Unterlage von Glaswolle, Watte oder Gaze liegen.

V. Einbetten.

89. Als Einbettungsmittel hat Paraffin die meisten Vorteile fuer sich. Es laesst die geringste Schnittdicke zu, erlaubt Serien zu schneiden und dringt gleichmaessig in das Objekt ein.

90. Das Gefriermikrotom hat sich im allgemeinen fuer Insekten wenig eingebuergert und ist nur fuer zusammenhaengende Gewebsteile zu verwenden.

91. Das fuer histologische Untersuchungen uebliche Paraffin mit dem Schmelzpunkt von 56-58° erweist sich in vielen Faellen als zu sproede.

92. Zur Zeit findet mit bestem Erfolg ein Gummi-Paraffin von folgender Zusammensetzung Verwendung: Zu 95 Teilen Paraffin vom Schmelzpunkt 56-58° setzt man im fluessigen Zustand 5 Teile einer Gummiloesung, die nach No. 28 hergestellt ist.

93. Die Objekte belasse man nicht zu kurz im heissen Paraffin. Die Haertung nimmt nach hier gemachten Erfahrungen im Thermostaten nicht zu, wenn Wasser und Alkohol restlos entfernt wurden. Das Benzol entweicht relativ schnell in wenigen Stunden. Um keine Anreicherung von Benzoldaempfen im Paraffin hervorzurufen, ist es

angebracht von Zeit zu Zeit mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe die Luft mit den Gasen aus dem Thermostaten abzusaugen.

94. Die Temperatur des Thermostaten muss zwischen 60 und 61° betragen. Bei geringerer Temperatur ist speziell bei Insekten die Eindringgeschwindigkeit des Paraffins zu gering.

95. Zum Einbetten kleiner Objekte genuegen normale Uhrglasschalen von 8 cm Durchmesser und 1 cm Tiefe. Fuer groessere Objekte sind verschieden tiefe Farbenschalen aus Glas oder Porzellan geeignet.

96. Fuer groessere Objekte lassen sich vorteilhaft Einbettrahmen aus Metall verwenden, die aus einer polierten Grundplatte aus nicht oxydierendem Metall und zwei rechtwinkligen Winkelstuecken bestehen, die ebenfalls poliert oder wenigstens geschliffen sind. Durch Verschieben der 1,5 cm hohen und ebenso dicken Winkelstuecke lassen sich alle notwendigen Formen des Paraffinblockes erreichen.

97. Glasgefaesse reibt man vor dem Eingiessen des Paraffins mit ganz wenig Glyzerin ein, bei poliertem Metall kann darauf verzichtet werden .

98. Wenn das Paraffin eine erhaertete Haut zeigt und die orientierten Objekte nicht mehr verschoben werden koennen, setzt man die Uhrschaelchen auf Wasser oder setzt die Form in eine Schale und fuellt Wasser auf, das aber nicht auf die Oberflaeche des Paraffins treten soll. Ein Untertauchen ist zu vermeiden, bis der Block oberflaechlich erhaertet ist. Erhaerten ohne Abkuehlung durch Wasser fuehrt zu ungleichmaessigen Bloecken.

VI. Schneiden.

99. Die guenstigste Schnittdicke liegt zwischen 5 und 10 micra. Nach einwandfreier Einbettung sind Schnitte von 2 micra Dicke moeglich. Gummi-Paraffin neigt bei 15 micra dicken Schnitten zum Einrollen.

100. Beim Schneiden entomologischer Objekte ist zu beachten, dass der Schnitt gleichmaessig und nicht zu langsam gefuehrt wird.

101. Die Laenge des Bandes zusammenhaengender Schnitt waehle man nicht zu lang. Es muss auf dem Objekttraeger genuegend Raum vorhanden bleiben, dass sich die Schnitte in der Laengsrichtung des Bandes strecken koenne. Bei geringer Schnittdicke erfolgt die Zusammenschiebung der Schnitte in staerkerem Masse als bei groesserer Dicke.

102. Das Aufkleben der Schnitte hat sehr sorgfaeltig zu erfolgen, da der Schnitt aus einem Insekt normalerweise aus zahlreichen, nicht zusammenhaengenden Einzelteilen besteht.

103. Der sorgfaeltig gereinigte Objekttraeger wird mit einem kleinen Tropfen Eiweiss-Glyzerin mit dem Daumen unter kraeftigem Druck eingerieben, bis das Glas von einem einheitlichen, gut sichtbaren Film aus Eiweissglyzerin ueberzogen ist. Dann werden 3 bis 4 Tropfen H_20 (dist.) darauf getropft, die sich schnell gleichmaessig ueber dem ganzen Objekttraeger verbreiten.

Loesung: Gleiche Teile Glyzerin (pur.) und Eiweiss eines frischen Huehnereis werden gruendlich zusammen geschuettelt und filtriert. Im Verhaeltnis 1 : 100 gibt man gegen Schimmelbildung Formol oder Thymol dazu.

104. Die Schnittbaender werden mit einem Pinsel vom Messer abgehoben und von links nach rechts sich folgend auf die Wasserschicht gelegt.

105. Der Traeger wird auf eine auf 45 bis 55° (nicht hoeher, da sonst das Paraffin zerlaeuft) geheizte elektrische Platte oder auf einen mit Gas geheizten Metalltisch gebracht. Zur gleichmaessigen Waermeleitung tropft man vorher Wasser auf, auf das man den Traeger legt. Die Schnitte strecken sich hier sichtzar bis fast zur normalen Groesse, die erreicht ist, wenn die Falten geglaettet sind (sichtbar bei schraegem Aufblick.)

106. Das Wasser wird vom Traeger abgegossen, wobei zu beachten ist, dass die Schnitte geordnet liegen bleiben. Mit einem Pinsel koennen die Schnittbaender vorsichtig bewegt werden.

107. Die Traeger kommen auf eine weniger erhitzte Stelle der Heizplatte zum Trocknen.

108. Man versaeume es nicht, vor dem Einreiben des Objekttraegers diesen zu beschriften. Am besten eignet sich hierfuer ein normaler Schreibdiamant.

VII. Faerben.

109. Vor jeder Faerbung soll man sich darueber klar sein, welche Substanzen im Schnitt vornehmlich gefaerbt werden sollen. Danach kann man sich fuer die Faerbemethode entscheiden, die sich nach der Natur der zu faerbenden und nach der Natur der faerbenden Substanz richtet.

110. Die folgende Uebersicht gibt einen kurzen Einblick in die Vielfalt der Moeglichkeiten:

1. Farbstoffgruppe: Basische Farbstoffe, bestehend aus einem Chromogen-Koerper und einer Chromophore basischer Natur (Chromophoren sind NH_2, $NH.CH_3$, $N(CH_3)_2$, NH u.a.).

Beispiele: Basisches Fuchsin, Gentianaviolett, Methylenblau, Methylengruen, Thionin, Toluidinblau.
Es werden spezifisch gefaerbt: Oxychromatin der Kerne, saure Kern — und Zellgranula, Nerven, Sekrete.
Basische Farbstoffe sind in Alkohol gut, in Wasser weniger gut loeslich. "Ein basischer Farbtsoff ist eine Farbbase oder das Salz einer solchen."

2. Farbstoffgruppe: Saure Fasbstoffe, bestehend aus einem Chromogenkoerper und einer Chromophore saurer Natur (Chromophoren sind: NH, COOH, NO_2, SO_2OH u. a.).
Beispiele: Kongorot, Eosin, Erythrosin, Orange, Pikrinsaeure, Saeurefuchsin.
Es werden spezifisch gefaerbt: Basichromatin der Kerne, Plasma und seine Differenzierungen bis zum Chitin.
Saure Farbstoffe sind in Alkohol weniger gut, in Wasser gut loeslich. "Ein saurer Farbstoff ist eine Farbsaeure oder das Salz einer solchen".
3. Farbstoffgruppe: Amphotere Farbstoffe, bestehend aus einem Chromogenkoerper mit basischen und sauren Chromophoren. Das Ueberwiegen einer Gruppe bestimmt die Natur der Farbe.
4. Farbstoffgruppe: Neutrale Farbstoffe, entstanden aus Vereinigung einer Farbsaeure und einer Farbbase als neuer Stoff (kein Gemisch!)
5. Farbstoffgruppe: Indifferente Farbstoffe, bestehend aus einem Chromogenkoerper und einer indifferenten Chromophore (Chromophoren sind: OCH_3, OC_2H5, O).

111. Es hat sich herausgestellt, dass es bei der Schnittfaerbung wesentlich besser ist, mit stark verduennten Farbloesungen zu arbeiten, da sie gleichmaessiger faerben, keine Farbflocken hinterlassen und nicht die feinen Konturen ueberlagern. Im allgemeinen ist ein solches Praeparat klarer und sauberer gefaerbt als ein solches mit stark konzentrierten Farbloesungen.

112. Wenn die Wahl zwischen progressiver und regressiver Faerbung besteht, ist der progressiven Methode — mit stark verduennten Loesungen — der Vorzug zu geben. Die regressive Faerbung sollte nur zur Herausarbeitung spezieller Strukturen dienen.
Bei progressiver Faerbung wird das Fortschreiten der Farbaufnahme durch die Gewebe verfolgt, bis der gewuenschte Faerbungsgrad erreicht ist; bei regressiver Faerbung wird immer stark ueberfaerbt und dann mit einer geeigneten Fluessigkeit die Farbe bis zum gewuenschten Grad extrahiert oder zerstoert.

113. Die auf der Heizplatte getrockneten Schnitte (einige Stunden, besser 24 Stunden, Glyzerin verdunstet sehr langsam!) werden schnell durch eine Gasflamme gezogen, so dass das Paraffin gerade schmilzt, wobei das Eiweiss auf dem Traeger koaguliert. Anschliessend kommen sie moeglichst schnell mit fluessigem Paraffin in eine Faerbe-

kuvette mit Xylol, wo sich das Paraffin loest, Dauer etwa 5 Minuten. Die Schnitte werden jetzt allein vom koagulierten Eiweiss auf dem Glas gehalten. Von jetzt ab sind die Schnitte sehr vorsichtig zu behandeln, beim Einstellen in andere Kuvetten duerfen sie nur behutsam bewegt werden, da sich sonst Teile der Schnitte abloesen.

114. Nicht selten nehmen Schnitte saure Farbstoffe wie Orange, Eosin, Azophloxin, Lichtgruen, Saeurefuchsin oder Chromotrop 2R nur schwach an. In diesem Falle hilft eine schwache Ansaeuerung der Farbloesung: Ein Tropfen Eisessig auf 100 cm^3 der Loesung (nicht mehr!).

115. Die Schnitte werden soweit die Alkoholreihe hinunter gefuehrt, jeweils 2-3 Minuten in einer Alkoholstufe, wie die jeweilige Faerbemethode es verlangt.

116. Chromalaun — Carmin.

a) Aus H_2O (dist.) in: Chromalaun-Carmin 1-12 Stunden (kontrollieren, bei Ueberfaerbung kann mit 0,5 %igem Salzsaeurealkohol entfaerbt werden),
b) Auswaschen in H_2O (dist.),
c) Alkoholreihe bis 96 %,
d) Einstellen in Kongorot 24 Stunden oder 1 Stunde in Farbloesung, die auf 60° erwaermt ist (Gegenfaerbung fuer Chitin),
e) Nach Abkuehlen auswaschen in Alkohol von 96 %,
f) Alkoholreihe und Xylol und Balsam.

Ergebnis: Kerne dunkelblau oder schwarz, Chitin leuchtend rot, plasmatische Strukturen in verschiedenen Toenen grau und blassrot.

Loesung: 1. Chromalaun-Carmin: In 100 cm^3 H_2O (dist.) von 80-90° werden 6 g Chromalaun geloest, anschliessend wird 1 g Carmin hinzugesetzt und die Loesung 15 Minuten gekocht. Nach Erkalten wird filtriert, zum Filtrat Thymol oder Formol (1 : 100) gegen Schimmelbildung zugesetzt.

2. Kongorot: 1 g Kongorot wird in 100 cm^3 Alkohol von 96 % mehrmals geschuettelt, nach 24 Stunden filtriert.

Beide Loesungen sind haltbar.

117. Saures Haemalaun:

a) Aus H_2O (dist.) in Haemalaun, 4 — 6 Minuten oder laenger, bis die Kerne gut gefaerbt sind (kontrollieren),
b) Auswaschen in fliessendem Wasser, 30 Minuten oder mehr. Es empfiehlt sich vor dem Entwaessern die Schnitte fuer 2 — 3 Minuten in 1 %igem Amoniakalkohol zu stellen, wenn das vorhandene Leitungswasser keine ausreichenden basischen Eigenschaften hat. Auf das Auswaschen in fliessendem Wasser

kann nicht verzichtet werden, da alle haemateinhaltigen Farbstoffe ueberaus empfindlich gegen Saeuren sind.

c) Alkoholreihe bis zum Alkohol von 96 %,

d) Gegenfaerbung mit Kongorot wie in Nr. 116.

Ergebnis: Kerne klarblau, Chitin leuchtend rot, Untergrund blaugrau, Faserstrukturen blassrot.

Loesungen: saures Haemalaun: In 500 cm^3 H_2O (dist.) werden 0,5 g Haematoxylin geloest, wozu genau 0,1 g Natriumjodat ($NaJO_3$) als Oxydationsmittel zugesetzt wird. Daraufhin fuegt man 25 g reines Kalialaun hinzu. Nach Loesung des Alauns werden 25 g Chrolhydrat und 0,5 g Zitronensaeure (crist.) hinzugefuegt. Die Loesung ist in neutralem Glas haltbar.

118. Delafield'sches Haematoxylin:

a) Aus H_2O (dist.) in D.'sches Haematoxylin 4 — 5 Stunden,

b) Bei Ueberfaerbung differenzieren in salzsaurem Alkohol (1 Tropfen offizinelle Salzsaeure auf 100 cm^3 absoluten Alkohol),

c) weiter wie in No. 117 b). Das Auswaschen hat besonders gruendlich zu erfolgen.

Ergebnis: Wie bei Haemalaun, nur sind die plasmatischen Strukturen in verschiedenem Grade schwaecher oder staerker mitgefaerbt worden. Auf eine Gegenfaerbung kann evtl. verzichtet werden, wenn nicht die Differenzierung der Chitinteile gewuenscht wird (Gegenfaerbung mit Kongorot) oder Sekrete nachgewiesen werden sollen (Gegenfaerbung mit einem Teerfarbstoff).

Loesung: D.'sches Haematoxylin: Stammloesung: in 200 cm^3 H_2O (dist.) werden 20 g Ammoniakalaun geloest, wozu 4 g Haematoxylin kommen, die vorher in 25 cm^3 absolutem Alkohol geloest wurden. Die Loesung muss 3 — 4 Tage offen und im Licht stehen und wird dann filtriert. Dem Filtrat werden zugesetzt 50 cm^3 Glyzerin und 50 cm^3 Methylalkohol. Nach 4 Tagen, in denen die Loesung offen und im Licht stehen muss, wird wiederum filtriert. Die Stammloesung ist gut haltbar. Zum Faerben nimmt man 0,5 cm^3 Stammloesung auf 50 cm^3 H_2O (dist.). Sollen feinere Strukturen dargestellt werden, ist es ratsam mit einer, halb so starken Loesung (0,5 cm^3 auf 100 cm^3 H_2O (dist.) 24 Stunden lang zu faerben.

119. Eisenhaematoxylin nach Heidenhain:

a) Aus H_2O (dist.) in: Eisenalaun (2,5 %), 3 — 12 Stunden,

b) abspuelen in Wasser,

c) faerben in Haematoxylin 12 — 36 Stunden (es bildet sich schwarzer Eisen-Haemateinlack),

d) Eisenalaun (2,5 %), differenzieren unter staendiger Kontrolle, vorher jedesmal abspuelen in fliessendem Wasser, um die Differenzierung zu unterbrechen. Um die Zerstoerung des Farblackes zu verlangsamen, kann man kurz vor dem Ende eine duennere Loesung (1,25 %) verwenden.
e) auswaschen in fliessendem Wasser, 1 Stunde. Evtl. kann vorher der Schnitt in Ammoniakwasser (0,1 %) gestellt werden.
f) Weiterbehandlung wie in No. 117.

Ergebnis: Je nach der Art der Fixierung und dem Grad der Differenzierung sind verschiedene Strukturen tief schwarz gefaerbt: Chromatin, Nucleolus, Streifen I, Q und Z und Granula der Muskulatur, Zentrosomen, Mitochondrien, Zellgranula u.a. Die uebrigen Gewebe sind im wechselnden Grad blassgrau oder gelb gefaerbt. Im allgemeinen kann auf eine Gegenfaerbung verzichtet werden, doch lohnt sich wie immer bei Insektenschnitten zur leichteren Orientierung die Gegenfaerbung mit Kongorot. (s. No. 116).

Loesung: 1. Eisenalaun: 2,5 g Eisenalaun (hellviolette Kristalle) in 100 cm^3 H_2O (dist.) kalt loesen.

2. Haematoxylin: 1 g Haematoxylin in 20 cm^3 Alkohol von 96 % loesen und mit 180 cm^3 H_2O (dist.) auffuellen. Die Loesung erhaelt erst nach 4 — 5 Wochen ihre Faerbekraft durch Oxydation des Haematoxylins zu Haematein an der freien Luft. Zur Faerbung nimmt man die auf die Haelfte mit H_2O (dist.) verduennte Loesung.

Die Oxydation kann beschleunigt werden durch Zusatz von genau 0,2 g $NaJO_3$ zu 1 g Haematoxylin. Die so bereitete Loesung kann sofort benuetzt werden.

120. Auch bei dieser Methode ist haeufig die progressive Faerbung der regressiven vorzuziehen, besonders wenn Uebersichtsbilder gewuenscht werden oder Schnitte mit verschiedenen Organen gefaerbt werden sollen. Hierzu verwendet man die stark verduennte Loesung: 1 Teil Farbloesung auf 3 — 5 Teile H_2O (dist.). Der Fortschritt der Faerbung ist von Zeit zu Zeit zu kontrollieren.

121. Eisenhaematoxylin nach Weigert.

a) Aus H_2O (dist.) werden die Schnitte auf Glasstaebe in eine Petrischale horizontal gelegt, so dass sie nirgends anstossen, und werden mit dem Farbgemisch ueberschichtet. Dauer 1 — 2 Minuten,
b) bei Ueberfaerbung differenzieren in 0,1 %iger Salzsaeure (HCl) in Wasser,
c) weiter wie in No. 117 b).

Ergebnis: Wie bei Haemalaun, aber die Farben kraeftiger, die feineren Strukturen werden staerker gefaerbt und wesentlich deutlicher gegeneinander abgesetzt. Naechst dem Haematoxylin nach Heidenhain

ist diese Methode fuer Insekten sehr geeignet, da durch sie die verschiedenen Gewebe differenziert dargestellt werden (besonders fuer mikroanatomische Methoden zu empfehlen).

Loesung: 1. 1 g Haematoxylin in 100 cm^3 Alkohol von 96 %.
2. 1,16 g Eisenchlorid in 98 cm^3 H_2O (dist.) mit 1 cm^3 offizineller Salzsaeure (oder: 4 cm^3 Liquor ferri sesquichlorati in 96 cm^3 H_2O (dist.) mit 1 cm^3 offizineller Salzsaeure). Von beiden Loesungen werden vor Gebrauch gleiche Teile gemischt. Die Mischung wird nach 8 Tagen unbrauchbar, die Loesungen sind unbegrenzt haltbar.

Es hat sich herausgestellt, dass in vielen Faellen, besonders bei der Herausarbeitung feinerer plasmatischer Strukturen in Druesenzellen, eine schwaechere Farbloesung Vorteile bietet. In diesen Faellen faerbt man mit 1 Teil Haematoxylin, 1 Teil Eisenchlorid und 2 Teilen H_2O (dist.) 5 — 6 Minuten lang.

122. Kernfaerbung mit Toluidinblau.

a) Aus Alkohol von 70 % in 5 %ige Eisenalaunloesung in Alkohol von 70 % 2 — 3 Stunden,
b) Abspuelen mit Alkohol von 70 %,
c) Einstellen in Farbloesung, 12 — 24 Stunden,
d) Auswaschen in Alkohol von 70 %,
e) Alkohol von 96 % 2 Minuten,
f) Kongorot (1 % in Alkohol von 96 %), 24 Stunden (oder 1 Stunde bei 60°),
g) Alkohol von 96 % 2 Minuten, dann absoluter Alkohol, Xylol.

Ergebnis: Klare, blaue Kernfaerbung, Plasma schwach gefaerbt, Chitin scharf rot, Schleim und Sekrete, auch Plasmaeinschluesse der Druesenzellen metachromatisch gefaerbt je nach ihrer Zusammensetzung.

Loesungen: Gesaettigte Loesung von Toluidinblau in H_2O (dist.), nach 2 Tagen mit der gleichem Menge Alkohol von 96 % mischen. Zur Faerbung nimmt man von dieser Stammloesung 3 cm^3 auf 80 cm^3 Alkohol von 70 %. Die Stammloesung ist gut haltbar.

Statt Toluidinblau kann ebenfalls Thionin verwendet werden, doch ist letzteres noch saeureempfindlicher als Toluidinblau.

123. Kernfaerbung mit Safranin.

a) Aus Alkohol von 70 % in die Farbloesung, 24 Stunden,
b) Abwaschen in Alkohol von 70 %,
c) weiter wie in No. 116 c).

Ergebnis: Kerne leuchten rot (Basichromatin), besser als eine Gegenfaerbung mit Kongorot alleine ist eine solche mit Kongorot und Lichtgruen (stark verduennt).

Loesungen: 1. Lichtgruen: Gesaettigte Loesung in H_2O (dist.), nach 2 Tagen mit der gleichen Menge Alkohol von 96 % auffuellen. Von dieser haltbaren Stammloesung gibt man 3 cm^3 zu 80 cm^3 einer 1 %igen Loesung von Kongorot in Alkohol von 96 %.

2. Safranin: 1 g Safranin in 70 cm^3 Alkohol von 100 % loesen, hiernach 30 cm^3 H_2O (dist.) hinzufuegen.

124. Gute, haltbare und einfache Kernfaerbungen ergeben die Kombinationen zwischen synthetischen Teerfarbstoffen und einer Beizfluessigkeit (Naeheres s. Becher 1921):

125. Gallocyanin-Chromalaun:

a) aus H_2O (dist.) in die Farbloesung 24 — 48 — Stunden,
b) H_2O (dist.) 15 — 20 Minuten,
c) Alkoholreihe, Xylol, Balsam
(evtl. kann nach Bedarf im Alkohol von 96 % eine Chitinfaerbung mit Kongorot durchgefuehrt werden, s. Nr. 116)

Ergebnis: Nur das Chromatin der Kerne faerbt sich blauschwarz bis schwarz.

Loesung: In 100 cm^3 Chromalaunloesung von 5 % in H_2O (dist.) werden genau 0,15 g Gallocyanin 3 Minuten lang gekocht. Nach Abkuehlen filtrieren und auf 100 cm^3 mit H_2O (dist.) auffuellen. Die Loesung ist haltbar, doch laesst die Intensitaet langsam nach.

126. Gallaminblau-Kalialaun:
Durchfuehrung wie bei Gallocyanin in Nr. 125, nur faerbt man 12 — 24 Stunden in der Farbloesung.
Ergebnis: Kerne leuchtend blau, Zellgrenzen, Faserstrukturen, Basalmembran und nicht stark inkrustiertes Chitin metachromatisch schwach rot, Plasma schwach blaeulich oder violett mitgefaerbt.

Loesung: In 100 cm^3 Kalialaunloesung von 5 % in H_2O (dist.) werden 0,1 g Gallaminblau bis zur Loesung gekocht, dann abkuehlen, filtrieren. Die Loesung ist haltbar. Statt Kalialaun kann auch Natriumalaun verwendet werden.

127. Alizarincyanin G — Aluminiumchlorid:
Durchfuehrung wie bei Gallocyanin (Nr. 125), die Dauer der Faerbung muss empirisch festgestellt werden, die Bildung des Aluminiumlackes erfolgt je nach Objekt und Fixierung in 1 — 24 Stunden.
Ergebnis: Bei kurzer Dauer sind nur die Kerne klar gefaerbt, bei laengerer Dauer auch Teile des uebrigen Gewebes. Eine Ueberfaerbung tritt nicht ein.

Loesung: In 100 cm^3 Aluminiumchlorid von 5 % in H_2O (dist.) werden genau 0,25 g Farbstoff 10 Minuten lang gekocht, nach 2 Stun-

den filtrieren, nach 1 Woche nochmals filtrieren. Nach Zusatz von Formol oder Thymol gegen Schimmelbildung ist die Loesung haltbar. Statt Alizarincyanin G oder RR kann auch Naphthazarin oder Rufigallol benutzt werden.

128. Anthracenblau-Aluminiumsulfat:
Durchfuehrung wie bei Gallocyanin (Nr. 125), Dauer 1 — 3 Stunden.
Ergebnis: Kerne blauviolett, Gewebe in verschiedenen Toenen roetlich oder violett.

Loesung: In 100 cm^3 Aluminiumsulfat von 5 % in H_2O (dist.) werden 0,5 g Anthracenblau-Paste kurz aufgekocht, nach 2-3 Stunden filtrieren. Die Loesung ist haltbar.

129. Mehrfachfaerbung nach van Gieson.

a) Nach Kernfaerbung mit Eisenhaematoxylin nach Weigert und Auswaschen in fliessendem Wasser Abtrocknen der Schnitte mit glattem Filtrierpapier,
b) Schnitte ueberschichten mit Pikrofuchsin, 1 Minute,
c) Farbloesung abgiessen, Abtrocken mit glattem Filtrierpapier,
d) Alkohol von 96 %, 1 — 2 Minuten,
e) Alkohol von 100 %, 2 Minuten, zweimalig,
f) Benzol-Xylol-Kanadabalsam.

Ergebnis: Kerne schwarzbraun, Bindegewebe rot, Muskeln gelb. Diese Methode ist nur als Schnellfaerbung zu gebrauchen, da die Farben nach einger Zeit verblassen.

Loesung: Pikrofuchsin: 100 cm^3 gesaettigte waessrige Pikrinsaeure mit 1 cm^3 1 %ige Saeurefuchsinloesung in H_2O (dist.).

130. Die beste und sicherste, auch haltbare Mehrfachfaerbung ist die von Heidenhain abgeaenderte Methode nach Mallory (Azanfaerbung). Es ist zu empfehlen, Objekte mit chromhaltigen Fixierungen zu vermeiden, alle anders fixierten Objekte sind gut zu verwenden.

a) Aus Alkohol von 96 % in Anilinalkohol, 30 Minuten,
b) Alkohol von 70 und 40 % je 2 Minuten,
c) H_2O (dist.) 3 Minuten,
d) Einstellen in Azokarmin von 60° (in Thermostat) 15 Minuten, anschliessend 10 Minuten abkuehlen lassen (am besten in einer Schale mit Wasser),
e) Abspuelen in H_2O (dist.),
f) Differenzieren in Anilinalkohol (Kontrolle bis nur Kerne rot gefaerbt sind), der Vorgang kann durch Zusatz von etwas H_2O (dist.) beschleunigt werden.
g) Essigsaurer Alkohol 1 Minute,

h) 5 %ige Phosphorwolframsaeure in H_2O (dist.) 2 Stunden,
i) H_2O (dist.) 1 Stunde,
k) Anilinblau-Orange-Essigsaeure 3 Stunden,
l) H_2O (dist.), Alkoholreihe, differenzieren in Alkohol von 96 %, Xylol und Kanadabalsam.

Ergebnis: Bindegewebe blau, Chromatin rot, Muskeln roetlich bis orange, Schleim blau, Chitin rot und gelb je nach Art der Inkrusten.

Loesungen: 1. Anilinalkohol: 0,1 cm^3 Anilinoel (pur.) auf 100 cm^3 Alkohol von 96 %.

2. Azokarmin: 0,1 g Azokarmin G in 100 cm^3 H_2O (dist.) aufschwemmen und kurz aufkochen, nach Abkuehlen filtrieren. Die sich im Filtrat absetzendem Farbnadeln loesen sich beim Erwaermen. Zu 100 cm^3 fuegt man 1 cm^3 Eisessig.

3. Essigsaurer Alkohol: 1 cm^3 Eisessig auf 100 cm^3 Alkohol von 96 %.

4. Anilinblau-Orange-Essigsaeure: Als Stammloesung verwendet man 0,5 g Anilinblau (wasserloeslich) und 2 g Goldorange G in 100 cm^3 H_2O (dist.) mit 8 cm^3 Eisessig. Aufkochen, nach Erkalten filtrieren. Zum Gebrauch verduennt man 1 Teil der Stammloesung mit 3 Teilen H_2O (dist.).

131. Als Gegenfaerbung kann mit ausreichendem Erfolg Kongorot alleine (1 % in Alkohol von 96 %, Faerbungsdauer bei 5 micra dicken Schnitten 6-10 Stunden, bei 10 micra dicken Schnitten 12 — 24 Stunden, bei Vorwaermung der Farbfluessigkeit auf 60° 1 Stunde bezw. 2 Stunden) verwendet werden. (s. No. 10).

Ergebnis: Chitin leuchtend rot, elastische Fasern schwach rot, die uebrigen Gewebe sind entsprechend dem Kernfarbmittel in verschiedenen Graden getoent.

132. Ebenfalls gute Ergebnisse erzielt man durch eine Gegenfaerbung mit Kongorot-Orange GG.

a) nach Kernfaerbung mit Eisenhaematoxylin nach Weigert oder Heidenhain Schnitte in fliessenden Wasser gut ausspuelen,
b) aus H_2O (dist.) in Kongorot-Orange GG 24 Stunden oder 2 Stunden bei 60°,
c) differenzieren in Alkohol von 96 %,
d) entwaessern und einschliessen in Kanadabalsam.

Ergebnis: Kerne und Fasernstrukturen wie in Nr. 119 und 121, Chitin rot oder gelb je nach Art der Inkrusten, hierdurch haeufig eine Trennung zwischen Exo-und Endocuticula durchfuehrbar, Muskeln gelbbraun.

Loesung: Gesaettigte waessrige Loesungen von Kongorot und Orange GG werden zu gleichen Teilen gemischt (Thymolzusatz gegen Schimmelbildung). Es kann eintreten, dass nach Fixierungen mit

Formol — oder Sublimatgemischen die Schnitte sich nur schwach faerben (abhaengig vom Objekt), in diesem Falle hilft haeufig ein Ansaeuern (1 % Eisessig) der Farbloesung. Vorsicht bei Vorfaerbungen mit Haematein.

133. Um nach dem Einschliessen der Schnitte in Kanadabalsam die Schicht moeglichst duenn zu halten (wichtig bei Anwendung von Oelimmersion), verwende man vorteilhaft duennfluessigen Balsam, da nach Verdunsten des Loesungsmittls die Schicht duenner wird, evtl. muss spaeter etwas Balsam zugefuegt werden.

Ein gutes Hilfsmittel zur Verringerung der Balsamschicht ist die Verwendung kleiner Bleigewichte, die nach dem Einschliessen auf das Deckglas gelegt werden. Fuer kleine Deckglaeser von 18 : 18 mm Kantenlaenge genuegen Gewichte von 10 mm Laenge und 5 mm Durchmesser, fuer groessere Deckglaeser von 24 : 32 mm Kantenlaenge solche von 15 mm Laenge und 5 mm Durchmesser, fuer groessere Deckglaeser benuetzt man entsprechend mehr Gewichte. Herausquellender Kanadabalsam laesst sich spaeter mit einer Rasierklinge abschaben und mit Xylol abwaschen.

134. Bei der Faerbung im Thermostaten vermeide man es, die Kuvetten oder Faerbeglaeser in den Thermostaten zu stellen, da die Wasser- oder Alkohol- und Benzoldaempfe das Paraffin verunreinigen. Besses ist es einen Eksikator Thinein zu stellen, der mit einem Schlauch nach aussen verbunden ist. Hierin kann man in Glaesern mit eingeschliffenem Stopfen die Fluessigkeiten vorwaermen und die Faerbung vornehmen.

VIII. Spezielle Fragen.

135. Nachweis der Muskelquerstreifung: Zum Nachweis, dass die Querstreifung der Muskeln kein kuenstliches Faerbungsprodukt ist, werden aus dem getoeteten, nicht fixierten Insekt Muskelfasern der verschiedensten Koerperteile genommen (als Demonstrationsbeispiele sind der Hauptmuskellaengsstamm und die Muskeln der Kopfkapsel von Lepidopterenraupen zu empfehlen) und sogleich

a) in Eisessig gelegt, 10 Minuten,
b) H_20 (dist.) 10 Minuten,
c) H_20 (dist.) und Glycerin (1 : 1) 10 Minuten,
d) reines Glycerin, einschliessen und umranden (s. No. 17 und 18).

Durch Aufnahme von Wasser sind die Inocommata deutlich im Glycerinpraeparat der zerzupften Fasern sichtbar geworden (Beobachtung mit Kontrastphasen-Mikroskop oder mit polarisiertem Licht ist zu empfehlen) Die Z-Streifen sind ebenfalls zu erkennen, sie schnueren den Muskel segmentartig ein, letzteres tritt besonders an Muskeln mit starker Lage von Sarkoplasma in Erscheinung.

136. Zum Nachweis der quergestreiften Muskulatur von Oesophagus und Rektum muss die Laengs-bezw. Ringmuskulatur abgezupft und wie in No. 135 behandelt werden. Auch eine Faerbung mit Delafields Haematoxilin ist zu empfehlen nach vorhergehender Fixierung der abgehobenen Muskularis mit Formoldaempfen (s. No. 51).

137. Zum Nachweis der unvollstaending quergestreiften Muskulatur des Mitteldarms wird (am besten von einer Raupe oder Coleopterenlarve) die Muskularis vorsichtig abgetragen und als Membran im Uhrglasschaelchen mit Eisessig wie in No. 135 behandelt. Die Membran wird durch ein untergeschobenes Deckglas im Wasser-Glycerin (1 : 1) aufgefangen und ausgebreitet. Dann wird das Deckglas mit der Pinzette umgedreht und auf einen Glycerintropfen auf den Objekttraeger gelegt und umrandet. Eine Faerbung ist wie in No. 136 ebenfalls moeglich.

138. Zur Darstellung der chitinigen Teile des Darms, besonders der Chitinzaehne des Proventrikels wird der Darm herauspraepariert und in einem Uerglasschaelchen mit 1/10 n-NaOH-Loesung uebergossen. Die Mazeration der Gewebe muss kontrolliert werden. Nach einiger Zeit lassen sich durch leichtes Schuetteln oder Zupfen die Chitinteile isolieren. Vorteilhaft ist eine vorhergehende Anfaerbung der Gewebe mit stark verduenntem Neutralrot.

139. Zu faerberischen Darstellung der Chromosomen in Quetschpraeparaten von den Speicheldruesen oder von Larven der Drosophila eignet sich folgende Methode:

Ausstrich 2 — 5 Minuten in die Farbloesung stellen, danach Alkoholreihe und Xylol.

Loesung: Man erhitzt 60 cm^3 Eisessig und fuegt 2 g Orcein und dann 40 cm^3 H_20 (dist.) hinzu, nach dem Erkalten wird filtriert.

Statt dieser Loesung kann man auch eine gesaettigte Loesung von Carmin in Eisessig von 40 % verwenden. Diese Methode ist jedoch nicht immer sicher, da die Qualitaeten des Carmins starken Schwankungen unterworfen sind.

Darstellung von Chromosomen. Um Chromosomen durch Quellung zu vergroessern, empfiehlt sich das Einstellen der Schnitte vor der Faerbung in eine 2 %ige Loesung von Natriumthiosulfat in H_20 (dist.). Der Vorgang muss kontrolliert werden, oder wenn eine Kontrolle aus technischen Gruenden nicht durchfuehrbar ist, muss die Einwirkungszeit empirisch festgelegt werden, da auch andere Zellstrukturen in dieser Loesung quellen. Anschliessend Faerbung mit Haematoxylin oder spezifischen Kernfarbstoffen.

140. Ausstrich von Leibeshoehlenfluessigkeit: Zur Gewinnung der Fluessigkeit wird das Insekt getoetet und sofort werden alle 6 Beine in der Mitte des Femur durchschnitten. Dann uebt man mit einer breiten Pinzette einen gleichmaessigen, steigenden Druck auf

das Abdomen aus. Hierdurch tritt ein grosser Teil der Fluessigkeit durch die Beinstuempfe aus. Der Ausstrich wird wie bei Saeugetierblut hergestellt, so dass der Tropfen auf dem gesaeuberten Objekttraeger von einem schraeg gehaltenen Glas entlang gezogen wird.

141. Faerbung der Ausstriche mit Heidenhains Eisenhaematoxylin-Lichtgruen:

a) Nach Osmiun — oder Formolgas abspuelen in fliessendem Wasser,
b) Faerbung und Differenzierung in Heidenhains Eisenhaematoxylin (s. No. 119),
c) aus fliessendem Wasser abspuelen in H_20 (dist.),
d) weiter wie unter No. 142 h) — i).

142. Faerbung der Ausstriche mit Safranin-Lichtgruen:

a) nach Osmiumraeucherung abspülen in fliessendem Wasser,
b) H_20 (dist.), zweimalig, je lo Minuten,
c) Alkohol von 70 % 2 Stunden,
d) bleichen in H_20_2 10 — 15 Minuten,
e) Safranin 10 Minuten,
f) H_20 (dist.) abspuelen,
g) in Alkohol von 96 % eintauchen,
h) Lichtgruen 1/2 — 2/3 Minuten,
i) Alkohol von 96 % — entwaessern und einschliessen in Balsam.

Ergebnis: Chromatin und Nukleolus rot, Plasma und seine Differenzierungen gruen.

Loesung: Safranin (wasserloeslich) in gesaettigter Loesung in Anilinwasser.
Lichtgruen in 1 %iger Loesung in Alkohol von 96 %.

143. Nervenfaerbung nach Cowdry: Fixierung in Carnoy 2 — 3 Stunden .

a) aufschneiden des Insekts, evtl. die gewuenschten Teile herauspraeparieren,
b) Alkoholreihe bis zum Alkohol von 40 %,
c) auswaschen in H_20 (dist.),
d) Silbernitratloesung 1,5 %ig 2 Tage,
e) dsgl. 1 Tag,
f) abspuelen in H_20 (dist.),
g) reduzieren im Dunkeln 24 Stunden,
h) abspuelen in H_20 (dist.),
i) Alkohol von 96 % 1 Stunde,
k) Alkohol von 100 % 2 Stunden,
l) Zedernholzöel 2 Stunden,

m) Paraffin (60°) 3 Stunden.
(Die Objekte sollen moeglichst klein sein, ganze Insekten sind unbedingt zu oeffnen. Von i) — m) ist Anwendung von Unterdruck zu empfehlen, da leicht Reste von Wasser und Alkohol zurueckbleiben.)

Das Objekt wird 2-3 micra dick geschnitten. Behandlung der Schnitte:

a') aus H_2O (dist.) in Goldchloridloesung (0,1 %ig, waessrig, neutralisieren mit Lithiumcarbonat) 2 Stunden,
b') Natriumthiosulfat 5 %ig 5 Minuten,
c') fliessendes Wasser 6 Stunden,
d') Gegenfaerbung in Toluidinloesung (1 %ig, waessrig),
e') entwaessern und einschliessen in Balsam.

Loesung: Reduktionsfluessigkeit: 1 g Pyrogallussaeure, 5 cm^3 Formol (40 %) und 100 cm^3 H_20 (dist.).

Ergebnis: Nervenfasern, Basalmembran, Sarcolemm und andere Membranen, auch Tonofibrillen schwarz, Nervenzellen graugelb, isotrope Substanz der Muskeln goldgelb, anisotrope Substanz, M— und Z-Streifen schwarz. Feinerer Bau des Chitins sehr deutlich, besser als nach Faerbung mit Kongorot-Phosphorwolframsaeure. Durch die unterschiedlichen Toenungen von schwarz und die scharfe Zeichnung der Fasern und Membranen bietet das Praeparat ein plastisches Bild.

144. Faerbung des Achsenzylinders nach Mallory:

a) Fixierung in Formol (40 %) 1:3 (Leitungswasser nehmen!)
b) direkt in gesaettigte, waessrige Loesung von Bleichlorid (etwas ueber 1 %) bei 40° 6 Tage lang, die Fluessigkeit ist am 1., 3. und 5. Tag zu wechseln.
c) auswaschen in fliessendem Wasser, 24 Stunden,
d) entwaessern und einschliessen in Paraffin.
e) schneiden 3 — 5 micra dick,
f) Faerben (Loesung siehe unten) bei 60°, 30 Minuten bis 1 Stunde
g) 5 — 30 Minuten in H_20 (dist.), mit 2 Tropfen Eisessig auf 100 cm^3 Wasser ansaeuern,
h) Alkoholreihe bis 100 %,
i) Terpinol,
k) Kanadabalsam, in Terpinol geloest.

Ergebnis: Achsenzylinder blau bis schwarz, Nukleus blau, Cytoplasma blaugrau, ebenso Neurofibrillen, aber scharf abgezeichnet.

Loesung: Loesung I:1 g Haematoxylin in 50 cm^3 absoluten Alkohol loesen.

Loesung II: gesaettigte waessrige Loesung von Magnesium oder Calciumcarbonat.

Vor Gebrauch wird auf 20 cm^3 der Loesung II 1 cm^3 der Loesung I gegeben.

Das Gemisch kann nur einmal verwendet werden.

145. Nervenfaerbung nach Bubenaite, auch zur Darstellung der Golgi-Substanz:

a) Fixierung in Formol (40 %, 1:9) 2 Tage oder mehr,
b) Kaliumbichromat (2,5 %ig, waessrig) bei 34° 2 Tage, (Objekte in der Fluessigkeit aufhaengen),
c) abtrockenen mit Filtrierpapier,
d) abspuelen in Silbernitrat (2 %ig, waessrig),
e) Silbernitrat (2 %ig, waessrig) bei 34° 2 Tage,
f) schnell entwaessern und einbetten, am besten mit Unterdruck.

Die 3 micra dicken Schnitte werden wie in Nr. 143 ab a') behandelt.

146. Kristallisierung von Sekreten.

In die Woelbung eines Hohlschliff-Objekttraegers werden frische Schuppen, sekretausleitende Borsten oder Hautteile gelegt oder das Sekret aufgetupft. Der Rand der Hoehlung wird mit einem schmalen Ring von Kanadabalsam umgeben und dann ein Deckglas aufgelegt, so dass der Hohlraum vollstaendig unter Luftabschluss steht. Das Praeparat wird in den Thermostat mit 60° gebracht. Hier verdunstet ein Teil der Fluessigkeit schnell. Nach 2 — 3 Stunden folgt langsames Abkuehlen (evtl. auf dem Vorwaermer bei 40°) bis auf Zimmertemperatur. Dabei sublimiert ein Teil der verdunsteten Fluessigkeit am Rand zu typischen Kristallen und Konglomeraten, die im polarisierten Licht zu beobachten sind. Der Sublimationsvorgang kann einige Tage in Anspruch nehmen. Bei schwacher Kristallbildung ist der Vorgang zu wiederholen und Temperatur und Zeit zu veraendern.

147. Eine besonders vorteilhafte Methode, die Eindringgeschwindigkeit und —tiefe zu vergroessern, ist die Anwendung von Unterdruck. Die Methode ist nicht nur fuer die Fixierung, sondern ebenso fuer Entwaessern und Durchdringen mit Paraffin geeignet. Man benutzt hierzu eine Wasserstrahlpumpe, die durch ein duennes Metallrohr oder einen dickwandigen Gummischlauch mit einem normalen Eksikator verbunden ist, dem ein Dreiwegehahn vorgeschaltet ist und der mit einem Quecksilbermanometer in Verbindung steht. Das Manometer muss durch einen Glashahn absperrbar sein.

148. Bei Inbetriebnahme der Pumpe wird durch den Dreiwegehahn der Eksikator mit der Pumpe direkt verbunden und gleichzeitig der Manometerhahn geoeffnet. Beginnt die Spitze der Quecksilbersaeule (s. No. 151) zu sinken, besteht ein Unterdruck von 380 mm Hg = 1/2 Atmosphaere. Sinkt die Saeule schnell, ist der Wasserdruck zu senken. Bei schnellem Absaugen der Luft kommt es zu Zerreissungen

und Verlagerungen im Koerper des Insekts, das in der Fluessigkeit in einem Gefaess im Eksikator steht. Die guenstigste Staerke des Absaugens entspricht etwa 15-25 mm Hg je Minute. Dabei entweichen sichtbar aus dem Objekt kleine Luftblasen. Bei kleinen Insekten saugt man die Luft bis etwa 350 mm Hg, bei groesseren bis etwa 250 mm Hg ab, im ersten Falle langsamer (15 mm Hg je Minute), im letzten Falle schneller, 25 mm Hg je Minute. Ist der gewuenschte Unterdruckt erreicht, schliesst man den Dreiwegehahn und stellt die Pumpe ab. Dann laesst man den Eksikator mit Unterdruck etwa 10 Minuten lang stehen, wobei der Druck nicht fallen darf. Danach schliesst man den Manometerhahn und oeffnet den Dreiwegehahn, so dass die Luft langsam einstroemt. Dadurch wird die Fluessigkeit durch die Tracheen in das Insekt gedrueckt. Hierbei muss der Manometerhahn geschlossen sein, da die aufschiessende Hg-Saeule das Glasrohr sprengen kann. Zum Schluss oeffnet man langsam den Manometerhahn, so dass das Hg langsam hochsteigt.

149. Zum Durchdringen mit Paraffin erfolgt der Vorgang innerhalb des Thermostaten mit fluessigem Paraffin.

150. Fehlt ein Dreiwegehahn, kommt man auch mit drei normalen Haehnen aus. Ein Hahn sperrt die Abzweigung zum Manometer ab, der zweite liegt zwischen Manometer und Pumpe, der dritte schliesst unmittelbar am Eksikator ein kurzes Rohr, durch das die Luft in den Eksikator stroemen kann. Vorteilhaft schmilzt man das Rohr an seiner Muendung so weit zu, so dass nur noch ein kleines Loch uebrig bleibt, so dass die Luft nie zu schnell einstroemen kann.

151. Quecksilbermanometer: Da bei groesserem Unterdruck Verlagerungen und Zerreissungen in den Organen eintreten, darf nur ein Unterdruck zwischen 380 und 200 mm Hg zur Anwendung kommen. Man biegt ein bleistiftdickes Glasrohr, das an einem Ende verschlossen ist, in der Weise U-foermig, dass der Abstand zwischen beiden Schenkeln etwa 2-3 cm betraegt. Die Laenge des geschlossenen Schenkels ist 40 cm, die des offenen Schenkels 35 cm, die Spitze des letzteren traegt ein abgebogenes, beliebig langes Anschlusstueck. Das Ganze montiert man senkrecht stehend auf ein Holzbrett und bringt an dem langen Schenkel eine verschiebbare mm-Teilung an. Jetzt fuellt man vorsichtig das Glasrohr mit reinem Hg, so dass kein Wasser und keine Luft hineinkommt, bis der geschlossene Schenkel ganz gefuellt ist und im offenen Schenkel der Meniskus des Hg etwa 1,5 — 2 cm hoch steht. Das Anschlusstueck wird unter Zwischenschaltung eines Hahnes an den Eksikator oder an die Saugleitung angeschlossen. Die mm-Teilung wird so gestellt, dass die 380 mm-Marke genau 380 mm ueber dem Meniskus im offenen Schenkel steht.

152. Hat man einwandfreien Naturgummi (Gummikuchen = eingedickter Saft des Gummibaumes) und die Moeglichkeit mit Unterdruck (etwa 300 mm Hg) (s. Nr. 147) zu arbeiten, kann man

im Thermostaten eine gesaettigte Loesung in Paraffin herstellen und so das Loesungsmittel vermeiden. Man schneidet ein Stueck Gummikuchen moeglichst klein in fluessiges Paraffin und laesst zwei bis drei Tage bei 60° stehen (umruehren!). Die Loesung entspricht einer Mischung von etwa 5 % Gummiloesung in Chloroform mit Paraffin. Dieses Gummiparaffin ist bei Verwendung von Unterdruck fuer histologische Arbeiten ausreichend, ohne Unterdruck beim Infiltrieren ist der Erfolg zweifelhalt, man verwendet dann besser die in Nr. 28 angegebene Methode.

153. Optische Hilfsmittel.

Man verfalle nicht in den Fehler, die Untersuchung eines Objektes mit einem komplizierten Geraet zu beginnen. Fuer Uebersichtsbilder genuegen schon geringe Vergroesserungen (moeglichst binokular), da durch die groessere Tiefenschaerfe das plastische Vorstellungsvermoegen des Beobachters unterstuetzt wird. Jede staerkere Vergroesserung verringert die Tiefenschaerfe.

Bei feineren morphologischen und anatomischen, wie auch besonders bei histologischen Arbeiten kommt man nur selten mit einem optischen Hilfsmittel aus. Neben den verschiedenen Durchlicht-und Auflicht-Mikroskopen ist oft die Verwendung von polarisiertem Licht zu empfehlen. Auch schwache Vergroesserungen der Elektronen-Mikroskope koennen herangezogen werden (etwa fuer den feineren Bau von Cuticularanhaengen). Besondere Vorteile bietet bei der Aufloesung feiner Strukturen das Kontrastphasen-Milkroskop vornehmlich beim Studium von Chitinschnitten, wenn diese ganz schwach angefaerbt sind (mit Kongorot oder Lichtgruen).

Naeheres s. diesbezuegliche technische Literatur.

154. Salzsaeure: n-HCl = 3,6 %ig.

Herstellung: 10 cm^3 HCl (spez. Gew. 1,19 = 23° Be. = 37 %ig) mit H_20 (dist.) auf 100 cm^3 auffuellen.

155. Salzsaeure, offizinelle: zu 100 cm^3 HCl (spez. Gew. 1,19 = 23° Be = 37 %) 50 cm^3 H_20 (dist.) hinzufuegen = Spez. Gew. von 1,124 = 25 %ig.

156. Liquor ferri sesquichlorati = 29 %ige Loesung von Eisenchlorid ($FeCl_3$) in H_20 (dist.).

157. Eisessig = konzentrierte Essigsaeure.
Essigsaeure = 96 %ige Loesung von Eisessig in H_2O (dist.).

158. Formol = etwa 40 %ige Loesung vom Gas des Formaldehyds in H_20 (dist.).

159. Alkohol = reiner Aethylalkohol, Siedepunkt des 100 %igen Alkohols = 78°.

160. Anilin = Anilinoel = Aminobenzol.

161. Anilinwasser = 10 cm^3 reines Anilin in 100 cm^3 H_2O (dist.) unter Schuetteln geloest.

162. Siedepunkte: Aceton — 56°, Chloroform — 61°, Methylalkohol — 67°, Aethylalkohol — 78°, Benzol — 80,5°, Toluol — 111°, Xylol — 140°, Anilinoel — 182°, Methylbenoat — 199°, Kreosot — 205°, Terpineol — 210°, Zedernholzoel — 237°, Nelkenoel — 247°, Glycerin — 290°, Paraffinoel — 300°.

163. Brechungseponenten (nD) einiger Aufhellungs-und Einschlussmittel:

Wasser (chem. rein)	1,330
Kaliumacetat	1,370
Lactofenol	1,440
Glycerin	1,456
Terpinol	1,480
Euparol	1,483
Toluol	1,490
Xylol	1,490
Zedernholzoel	1,510
Kanadabalsam	1,530
Wintergruenoel	1,538
Glyceringelatine	1,542
Benzylbenzoat	1,570
Anilinoel	1,588

IX. Literatur.

Apáthy, S. von, 1892, Erfahrungen in der Behandlung des Nervensystems fuer histologische Zwecke. Z. w. M. 9 : 37 (Anm.)

Becher, S., 1921, Untersuchungen ueber Echtfaerbungen der Zellkerne mit kuenstlichen Beizenfarbstoffen, 318 pgs., Berlin.

Carnoy, I. B. et Lebrun, H., 1897, La vésicule germinative et les globules polaires. La Cellule, Vol. 12.

Costa Lima, A. de, 1942, Os insetos do Brasil, Rio de Janeiro, Tomo 3 : 200-201.

Duboscg-Brasil, 1905, Archives de zoolog. expériment. Vol. 4 : 74.

Fernandes, *M.* C., 1949, Métodos escolhidos de técnica microscópica. II. Ed., Rio de Janeiro, 615 pgs. 207 figs.

Heidenhain, M., 1896, Noch einmal ueber die Darstellung der Zentralkoerper durch Eisenhaematoxylin. Z. w. M. 13 : 186-199.

Heidenhain, M., 1915, Ueber die Mallorysche Bindegewebsfaerbung mit Karmin und Azokarmin als Vorfarben, Z. w. M. 32 : 361-372.

Heidenhain, M., 1916, 25 Jahre Eisenhaematoxylin, Z. w. M. 33 : 225-231.

MAYER, P., 1920, Zoomikrotechnik, Berlin, 516 pgs.

OVERTON, E., 1890, Mikrotechnische Mitteilungen aus dem botanischen Laboratorium der Universitaet Zuerich. Z. w. M., 7 : 9-16.

ROMEIS, B., 1928, Guia-Formulário de Técnica Histológica. Barcelona-Madrid, Buenos Aires.

ROMEIS, B., 1948, Mikroskopische Technik, Muenchen, 695 pgs.

RUIJTER, J. H. C., 1934, Eine Methode zum Umranden von Praeperaten. Z. w. M. 51 : 374.

SEKI, M., 1937, Unterschungen mit nicht waessrigen Fluessigkeiten I. Fixierung von Geweben in nicht waessrigen Fleussigkeiten. Z. Zellf. 26 : 321-337.

SEKI, M., 1937, Untersuchungen mit nicht waessrigen Fluessigkeiten II. Schrumpfung von fixierten Geweben waehrend der Ueberfuehrung von Wasser bis Paraffin. Z. Zellf. 26 : 305-320.

SEKI, M., 1937, Untersuchungen mit nicht waessrigen Fluessigkeiten V. Feingewebliche Veraenderungen, die bei Fixierung und Einbettung durch verschiedene nicht waessrige Fluessigkeiten verursacht werden. Z. Zellf. 27 : 282-300.

WERNER, CL. F., 1934, Ueber den Einfluss von Temperatur und Druck auf das Ergebnis der histologischen Fixation. Z. Zellf. 20 : 746-753.

WERNER, CL. F., 1935, Der Saeuregrad der Fixationsloesung in Abhaengigkeit vom fixierten Praeparat. Z. w. M. 32 : 406-418.

WERNER, CL. F., 1936, Die Dauer der Fixation. Z. w. M. 53 : 440-442.

WOLF-HEIDEGGER, G., 1939, Die Anwendung von Kava-Kava bei der Fixierung des Duenndarms und anderer Hohlorgane. Z. w. M. 56 : 417-452.

ZEIGER, K., 1938, Physikochemische Grundlagen der histologischen Methodik. Dresden und Leipzig.

ZELLER, H., 1942, Der Einschluss in Glycerin. Z. w. M. 58 : 314-320.

Eine Zusammenfassung der aelteren und neuren Arbeten ueber Mikrotechnik findet man bei Romeis (1948).

X. Index.

Alkohol 51 — 54, 82, 83, 159
Alkohol, essigsaurer 114, 130
Alkohol-Benzolreihe 83
Alkoholreihe 86
Anilinoel 25, 160, 161, 163
Ansaeuern der Farbstoffe 114
Aethylalkohol 159
Atonie 3, 4
Aufhellen 19, 24, 25
Aufkleben der Schnitte 102 ff.
Aufweichen von Chitin 23
Ausstriche 140, 141, 142
Azanfaerbung 130
Benzol 83
Benzylbenzoat 24, 163
Bleichen 21 ff., 70
Bleichlorid 144
Brechungsexponenten 163
Calziumcarbonat 144
Chitinwand des Darmes 138
Chloralhydrat 21
Chlordioxydsalpetersaeure 23

Chromalaun 116
Chromosomen 139
Chromsaeure 49
Diaphanol 23
Einbetten 89 ff.
Einschliessen der Schnitte 133, 134
Einschlussmittel, Glycerin 13, 14
Einschlussmittel, Gummisirup 16
Eisenchlorid 121, 156
Eisessig, 64, 135, 157
Eiweiss-Glycerin 103
Exikator 134, 147 ff.
Entfernen von Schuppen 7
Entfetten 10
Entspannen der Muskeln 3 — 5
Entwaessern 82 ff.
Essigaether 2
Essigsaeure 63 ff., 157
Euparol
Farbstoffe, allgemein 110
Farbstoffe, amphotere 110
Farbstoffe, basische 110
Farbstoffe, indifferente 110
Farbstoffe, Konzentration 111
Farbstoffe, neutrale 110
Farbstoffe, saure 110
Farbstoffe:
- Alizarincyanin G — Aluminiumchlorid 127
- Anilinblau — Orange — Essigsaeure 130
- Anthracenblau — Aluminiumsulfat 128
- Azokarmin 130
- Brillantgruen 31, 32
- Carmin 116, 139
- Chromalaun-Carmin 116
- Eisenhaematoxylin 119, 121
- Gallamin-Kalialaun 126
- Gallocyanin-Chromalaun 125
- Haemalaun, saures 15, 117
- Haematoxylin nach Delafield 118
- Haematoxylin nach Heidenhain 119
- Haematoxylin nach Weigert 121
- Kongorot 10, 20, 131
- Lichtgruen 123, 142
- Methylenblau 15, 31, 32
- Neutralrot 15, 31, 32
- Orange 20, 34, 132
- Orcëin 139
- Pikrofuchsin 129
- Safranin 123
- Sudan III 33
- Toluidinblau 24, 122, 143

Faerbung, allgemein 109 ff.
Faerbung mit histologischen Farben siehe Farbstoffe
Faerbung, progressiv 112
Faerbung, regressiv 112
Faerbung, Total — 15, 29 — 34
Faerbung von Hautanhaengen 9 — 11
Faerbung von Muskeln 34, 135
Fixierung, allgemein 35 ff.
Fixierung, Fluessigkeiten 38 ff.
Fixierung mit: Alkohol — 51, 54
- Alkohol-Eisessig 71
- Eisessig 64
- Essisgsaeure 63 ff.
- Formaldehyddampf 51
- Formol 56 ff.
- Gasen 48 ff.
- Joddampf 50
- Kaliumbichromat 73, 78
- Osmiumsaeure 49 6,6 ff., 74
- Pikrin-Salpetersaeure 76
- Pikrinsaeure 75
- Pyridin 81
- Salpetersaeure 80
- Sublimat 55, 77 — 79

Fixierung nach:
- Bouin 75
- Burke 81
- Carnoy 72
- Flemming 74
- Gilson 77
- Heidenhain 78
- Mayer 76
- Orth 73
- Petrunkewitsch 80
- Zenker 78

Formol 56 ff., 62, 158
Glycerin 13, 14, 163
Glyceringelatine 163
Goldchlorid 143
Gummiloesung 28
Gummiparaffin 92, 152
Gummisirup 16
Haertung der Gewebe 93

Hautanhaenge 7, 9 — 12
Impraegnation 143
Injizieren des Fixadors 43, 44
Jod 77
Jod-Jodkali 77
Kalilauge 17
Kaliumacetat 163
Kaliumbichromat 145
Kaliumhydroxyd 17
Kanadabalsam 163
Kava-Kava 3, 4
Konservierungsfluessigkeit nach Jorres 26
Konservierungsfluessigkeit nach Klotz 26
Kotballen von Insekten 8
Lactophenol 163
Leibeshoehlenfluessigkeit 140
Magnesiumcarbonat 144
Manometer (Quecksilber) 148
Mazeration 21
Mehrfachfaerbung 129 ff.
Methylsalicilat 24
Muskeln, entspannen 3 — 5
Muskeln, Querstreifung 135 — 137
Nachfixierung 37, 60
Nachweis von:
Chitin 20
Fett 49
Fettkoerper 33
Muskeln 34
Oel 49
Wachs 49
Natriumthiosulfat 77
Natriumthiosulfat fuer Chromosomen 139
Natronlauge 19
Nelkenoel 25
Nervenfaerbung 143 — 145
Niederschlaege von:
Chromaten 73
Formol 73
Sublimat 77
Oberflaechenuntersuchung 6
Optische Hilfsmittel 153
Osmiumsaeure 49, 74
Osmiumtetroxyd 49, 74
Paraffin 83, 89 ff.
Paraffin, Aufloesen 113
Paraffin, Durchdringen mit 148
Perhydrol 21
Phosphorwolframsaeure 130
Praeparierschalen 28
Pyrogallussaeure 143
Reduktionsfluessigkeit 143
Replica 6
Ringerloesung 3
Salzsaeure 15, 154, 155
Schneiden von Paraffinbloecken 99 ff.
Schnittdicke 99
Schrumpfung 2, 14, 58, 67, 71
Sekrete, Kristalisation 146
Sektion von Insekten 27 — 29
Siedepunkte 162
Silbernitrat 143, 145
Spalteholzverfahren 24
Strecken der Schnitte 105
Sublimat 55
Teerfarbstoffe, synthetische 124
Terpinol 25, 144, 163
Thermostat 94, 134
Toeten des Insekts 1, 2
Toluol 163
Totalfaerbung 15, 29 — 34
Totalpraeparate 13, 19
Trichloressigsaeure 79
Umranden 17, 18
Unterdruck 147
Verduennen von:
Fluessigkeiten 87
Formol 59
Wasser (rein) 163
Wasserstoffsuperoxyd 21
Wasserstrahlpumpe 148
Wintergruenoel 24, 163
Xylol 163
Zedernholzoel 163
Zelluloseloesung 6

XI. Anhang

Guenstige entomologische Objekte fuer histologische Untersuchungen

Zur Untersuchung von	Objekt	Methode
A) Integument		
1. Aufbau		
a) Schichten, Lamellen, Pseudoporen	Koerperwand einer wenig behaarten Raupe (*Sphingidae, Noctuidae*, fuer Pseudoporen: *Lasiocampidae*)	Quer- und Laengsschnitt, siehe 1c)
b) Sklerite	Abdomen einer Culicide	Querschnitt, siehe 1 c)
c) Intersegmentalmembran	Collembole, Larve einer Muscidae oder Lepidoptere	Laengsschnitt Beizung mit Phosphorwolframsaeure, Faerbung mit Kongorot. Polarisiertes Licht oder Kontrastphase.
2. Anhaenge der Cuticula:		
a) Unechte Haare	Fluegel von Trichopteren	Totalpraeparat oder Replica
b) Echte Haare: Borsten Haare Schuppen	Raupen von Lepidopteren (*Lasiocampidae, Megalopygidae*) Lepidopteren (*Arctiidae, Noctuidae*) *Culicidae, Lepismatidae, Coleoptera*	Totalpraeparate lufttrocken oder(in Kanadabalsam, Querschnitte
c) Druesenhaare	Raupen von Arctiidae, Lasiocampidae, Pulvillen von Muscidae Duftschuppen der Maennchen vieller Lepidoptera (Fluegel der *Pieridae*, Abdomen der *Brassolidae*)	Quer- und Laengsschnitte, Haematoxylin–Kongorot Totalpraeparate
d) Sinneshaare, Sinnesgruben, Sammelorgane	Mundwerkzeuge und Antennen aller Insekten, Palpen vieler *Lepidoptera*, Tarsen der *Muscidae*	Schnitte wie bei Druesenhaaren, Totalpraeparate der betreffenden Organe trocken oder in Balsam
3. Auswuechse der Cuticula:		
a) unverzweigte Dornen	Hintertibie von *Scarabacidae* oder *Lepidoptera*	Totalpraeparate lufttrocken, Schnitte, Haematoxylin-Kongorot
b) verzweigte Dornen	Raupen einiger Lepidopteren (*Automeris*)	
c) monstroese (atelische) Bildungen	Hemipteren: Kopf von Fulgoridae, Prothorax von Membracidae, Beine von *Coreidae* oder *Pentatomidae*, ganzer Koerper von *Tingidae*	

Zur Untersuchung von	Objekt	Methode
4. Hypodermis:		
a) zelliger Aufbau	Frisch gehaeutete junge Larven, besser noch Larven kurz vor der Haeutung	Laengs- und Querschnitte, Haematoxylin-Eosin oder Saeurefuchsin, Safranin-Lichtgruen, Azanfaerbung
b) syncitialer Aufbau	Aeltere, erwachsene Imagines	dsgl.
c) Hautdruesen: Giftdruesen	Raupen von *Arctiidae*, *Lasiocampidae* oder *Megalopygidae*	Heidenhains Eisenhaematoxylin, Azanfaerbung Anthracenblau-Aluminiumsulfat
Duftdruesen	Weibchen von Phycitinae (Abdomenende), Maennchen zahlreicher *Lepidoptera* (abdominale Seitendruesen von *Brassoliidae*)	dsgl.
Hormondruesen	Lepidopterenlarven waehrend der Haeutung	dsgl.
Haftdruesen	Pulvillen oder Empodien der Tarsenglieder vieler Insekten	dsgl.
Wachsdruesen	Honigbiene, Raupen einiger *Lasiocampidae*	dsgl.
Wehrdruesen	Stinkdruesen der Heteropteren, Nackengabel der Raupen von *Papilionidae*	dsgl.
Mandibulardruesen	Kopf der Honigbiene oder Raupe	dsgl. und Totalpraeparate
Labialdruese	Kopf bezw. Thorax der Heteropteren, der Raupen oder der Honigbiene	dsgl. und Totalpraeparate
Stacheldruese	Koerperende der aculaeten *Hymenoptera*	dsgl. und Totalpraeparate
B) Muskeln		
a) Skelettmuskeln	Larven vieler Insekten (*Lepidoptera*), Muskel der Schallmembran der Zikaden, Femur von *Orthoptera*, Flugmuskeln von *Sphingidae*	Heidenhains Eisenhaematoxylin

Zur Untersuchung von	Objekt	Methode
b) Darmmuskeln	Proventrikel der Kuechenschabe, Mitteldarm pflanzenfressender Larven (*Lepidoptera*). Zur Untersuchung feiner Fibrillen: Mitteldarm parasitierender Larven (*Ichneumonidae*, *Tachinidae* u.a.	dsgl.
c) Sehnen	Beine der Insekten, (Speichelpumpe der *Hemiptera*, (Kopf der Raupen (von *Lepidoptera*	Kernfaerbung mit einem Haematoxylin (Weigert) und Gegenfaerbung mit Kongorot–Orange bei 60°.
d) Insertionen	Cuticula der Raupen von *Sphingidae* (Ansatz der grossen Laengsmuskelstaemme), Pharynxsdach im Kopf von *Heteroptera*.	Heidenhains Eisenhaematoxylin oder Azanfaerbung
C) Darm a) Pharynx	*Hemiptera*, *Culicidae*	Heamatoxylin-Kongorot
b) Oesophagus	Kuechenschabe	Laengs– und Querschnitte, Haematoxylin (Delafield) — Kongorot-Orange (bei d. ohne Gegenfaerbung), Safranin–Lichtgruen, Anthracenblau–Aluminiumsulfat, Azanfaerbung
c) Proventrikel		
d) Mitteldarm		
e) Enddarm		
f) Caeca des Mitteldarms	Kuechenschabe, *Carabidae*, *Homoptera*	Haematoxylin–Saeurefuchsin, Teerfarben
g) Malpigische Gefaesse	fast alle Insekten	dsgl. und Totalpraeparate
h) peritrophische Membran	Raupen der pflanzenfressenden *Lepidoptera*	dsgl.
D) Tracheen a) Stigmen	Raupen der *Lepidoptera*	Totalpraeparat oder Schnitte mit Haematoxylin-Kongorot
b) Tracheensystem	*Thysanura*	Totalpraeparat aufhellen
c) feinere Verzweigung	Darmwandung (nur Muskularis) der Larven von *Coleoptera*, *Muscidae* und *Lepidoptera*	Membran als Ganzes in Flaechenansicht mit Haematoxylin oder Safranin.
d) Tracheolen	Tracheenkiemen von Larven der *Zygoptera* oder *Corydalinae*	ohne Faerbung mit Kontrastphasen-Mikroskop

Zur Untersuchung von	Objekt	Methode
e) Luftsaecke	an Tympanal- und Stridulationsorganen von *Orthoptera* und *Homoptera*, an den *Keim*druesen von *Homoptera*	ohne Faerbung als Totalpraeparat, Totalfaerbung mit Kongorot, Schnitte mit Haematoxylin-Kongorot
E) Rueckengefaess a) Gefaess	Raupen von *Sphingidae* (mit Pericardialzellen aussen), *Heteroptera* (mit Pericardialzellen innen)	Heidenhains Eisenhaematoxylin — Saeurefuchsin
b) Aorta	Kopf (*Coleoptera, Heteroptera*)	dsgl.
c) Leibenshoehlenfluessigkeit	besonders guenstig Raupen von *Sphingidae*	Ausstrich, Safranin-Lichtgruen
F) Nervensystem 1. Uebersicht	Raupe von *Sphingidae*, grosse *Diptera* (*Tabanidae*) grosse *Heteroptera* grosse *Vespidae*	Praeparieren durch Dorsalschnitt, Faerben mit Delafields Haematoxylin
2. Kopfganglion	alle Insekten, besonders Honigbiene, *Heteroptera*,	Schnittserie laengs und quer Heidenhains Eisenhaematoxylin (scheidet bei starker Differenzierung die (Ganglienschicht von den Fasern), Silbernitrat-Goldchlorid
3. Sinnesorgane a) Omatidien	*Thysanura*	Total praeparat oder Schintte quer oder laengs-frontal, Heidenhains Eisenhaematoxylin, Azanfaerbung, Silber-Gold-Impraegnierung
b) Ocellen	Fluginsekten	
c) Komplexaugen	*Odonata, Ephemerida, Coleoptera-Gyridae*	
d) Tympanalorgane	*Acrididae* (erstes Abdominalsegment), *Tettigonidae* (Vordertibie)	Quer- und Laengsschnitte, Haematoxylin-Kongorot-Orange
C) Johnston'sches Organ	Pedicellus von *Culicidae*	Laengsschnitt, Haematoxylin-Kongorot-Orange oder Gold-Silber-Impraegnation mit Kongorot
G) Reproduktive Organe	Testikel und Ovarien aus *Acrididae*, Zikaden u.a.	Schnitte mit Haematoxylin, (besonders Heidenhains)
H) Diaphragmen	Femur von *Heteroptera* oder *Coleoptera*, Abdomen von *Odonata*	Querschnitte mit Heidenhains Eisenhaematoxylin, Azanfaerbung

Zur Untersuchung von	Objekt	Methode
I) Fettkoerper	Raupen der *Lepidoptera*	Haematoxylin-Saeurefuchsin, Safranin-Lichtgruen, Ausstrich mit Osmiumsaeure fixieren oder firsch mit Sudan III faerben
K) Zellkerne		
a) aktive Hypodermiskerne	Hypodermis von Raupen und Larven waehrend der Haeutung	Heidenhains Eisenhaematoxylin, basische Teerfarben
b) degenerierte Kerne	Syncitiale Hypodermis aller Insekten (einige Tage nach der Haeutung oder Imagines)	dsgl.
c) Makrokerne	Labial- und Mandibulardruesen der Raupen von *Lepidoptera*, der Honigbiene oder *Drosophila*, Malpigische Gefaesse	dsgl. fuer Schnitte, Totalpraeparate progressiv mit Delafields Haematoxylin
d) Chromosomen	Keimduresen von *Acrididae Lepidoptera* u. a., Labialdruesen und Gehirn von Larven von *Drosophila*	Schnitte und Quetschpraeparate mit Heidenhains Eisenhaematoxylin, Orcein, Carmin, Safranin.

Considerações gerais sôbre os órgãos odoríferos sexuais dos machos dos Lepidópteros

de

Rudolf Barth

(com 2 figuras e 2 tabelas)

Durante o estudo das glândulas odoríferas sexuais dos machos surgem sempre mais argumentos para afirmar que êsses órgãos representam na vida dos Lepidópteros e de outros insetos um papel importante. Segundo os canhecimentos atuais com respeito à importância do material aromático no hábito de ambos os sexos entre si, são consideradas em geral as glândulas femininas como glândulas atraentes e as dos machos como glândulas estimuladoras. As glândulas atraentes produzem secreções que estimulam os machos para aproximar-se á fêmea de distâncias mais ou menos grandes. Espécies que vivem num ambiente espaçoso possuem, as fêmeas, aparelhos glandulares grandes e correspondendo a êste fato as antenas dos machos estão cobertas densamente com quimo-receptores para sentir de distâncias os sinais aromáticos e poder voar ao encontro das mesmas. Os órgãos odoríferos dos machos neste grupo também são grandes mesmo se o inseto tem um corpo pequeno. Nas espécies que vivem num ambiente restrito, as condições são invertidas.

As reações dos machos começam sòmente quando existe no ar um determinado grau de concentração do material aromático que no macho ultrapassa o limite mínimo do estímulo. Nisto o inseto movimenta-se em direção ao diferencial da concentração, a reação é assim definida como quimotaxia positiva (veja os trabalhos de Barth, 1937, Lehmnsick e Liebers, 1928, Magnus 1950). Num determinado ponto de concentração do gás aromático da fêmea é ultrapassado novamente no macho um limite mínimo do estímulo por meio do qual são provocadas reações estimuladoras típicas constantes de movimentos e posições características do macho acompanhadas de atividade aumentada das suas glândulas odoríferas sexuais. O efeito dêstes materiais aromáticos (Barth, 1952) que frequentemente podem ser sentidos pelo órgão olfativo do homem, sôbre a fêmea provoca uma disposição à copulação que vai traduzir-se por movimentos e posições típicas, diminuindo a reação de fuga e impedindo-a ao fim. Por determinados estímulos de contato provocados pelo macho são aumentadas as reações da fêmea (Magnus, 1950). Essas

observações referem-se exclusivamente à Lepidópteros noturnos. Nas formas diurnas falta frequentemente o efeito atraente das glândulas da fêmea aparecendo no seu lugar como estímulo equivalente a recepção ótica de movimento, côr e forma pela qual o macho é conduzido á fêmea. O efeito das glândulas do macho é o mesmo como nas espécies noturnas.

Exceções desta regra, i.é, que o macho emite o estímulo atraente, são conhecidas de *Hepialus hectus* (DEEGENER, 1902) e de *Aphomia gularis* (BARTH, 1937).

No trabalho sôbre o órgão odorífero do macho de Caligo arisbe *Barth* (1953) chama a atenção ao fato de que os órgãos odoríferos dos machos dos lepidópteros dentro de um grupo mais ou menos amplo (família ou subfamíllia) formam-se sempre num determinado órgão na suposição que o método de vida das espécies é aproximadamente o mesmo podendo-se falar assim de uma "constância orgânica". Como prova desta regra é apresentado um resumo neste sentido. Ao mesmo tempo pode-se comprovar que a formação dos órgãos nas espécies de um tal grupo sempre obedece ao mesmo plano básico (veja tabela 1).

Esta regra permite conclusões filogenéticas interessantes: Na família das *Hesperiidae* (tab. 1) devem ter-se separadas cedo as três subfamílias pois em cada uma delas desenvolveu-se um tipo de órgão odorífero. Como porém existem certas correlações entre *Hesperiinae* e *Pyrrhopyginae* devemos concluir que a subfamília *Pamphilinae* já tornou-se independente antes da separação dos grupos inicialmente citados. Devemos atribuir uma idade maior à uma família com diversos grupos com vários tipos de órgãos do que à uma outra com um plano uniforme. De outro lado êste fato indica uma origem polifilética. Aqui deve-se lembrar especialmente dos noctuidose heterônomos com numerosos tipos de órgãos ao contrário dos sfingídeos homônomos com tipo orgânico uniforme.

Na descrição dos órgãos odoríferos das *Heliconiinae* BARTH (1952) cita numerosos exemplos sôbre a constância das formas das escamas odoríferas dentro das espécies e com isto da especificação destas formas para uma espécie. Mesmo em espécies com parentesco foram observadas diferenças na forma e no tamanho das escamas odoríferas. De outros trabalhos conclui-se que tais diferenças também existem em outros grupos sistemáticos que confirmam a regra das formas particulares de cada espécie de partes quitinosas dos órgãos odoríferos. P. ex. a formação diferente das formas das escamas nas *Hesperidae* e das inserções das escamas odoríferas em *Opsiphanes* e *Caligo* (BARTH, 1952, 1953), a estrutura mais fina das cerdas distribuidoras de espécies de noctuideos parentes (observação não publicada do autor), as diferentes formas dos pedúnculos de inserção de escamas odoríferas das *Pieridae*. Como demonstração serve a figura 1 com várias formas de escamas odoríferas de algumas *Nymphalidae*.

Destas observações chega-se a conclusão de que as particularidades dos órgãos odoríferos por causa de sua especificação para uma espécie podem servir para explicar, na parte sistemática, como meio auxiliar em casos duvidosos (formação de subspécies etc.).

Um estudo comparativo dos órgãos odoríferos dos machos dos Lepidópteros até agora descritos conduz à observação interessante, que as espécies noturnas em média possuem órgãos odoríferos mais completos do que as espécies diurnas. Com isto deve-se admitir que as espécies que vivem à luz do dia utilizam-se em parte da percepção ótica de cor e forma para o reconhecimento do outro sexo e também para se estimularem. De outro lado as noturnas podem recorrer sòmente ao seu sentido olfativo. Para dar uma base à esta regra, deve-se determinar de um lado a compensação do grau do desenvolvimento dos órgãos odoríferos do macho, de outro lado fazer um confronto dos Lepidópteros diurnos e noturnos no que diz respeito ao grau de desenvolvimento destes órgãos.

Na análise do grau de desenvolvimento devem ser considerados os seguintes pontos:

a) Posição das células glandulares devendo prestar atenção se as células glandulares como nos órgãos odoríferos simples encontram-se espalhadas ou como nos aparelhos com evolução mais perfeita concentradas formando um tecido mais ou menos uniforme.

b) Garantia da evaporação da secreção glandular devendo ser observados os aparelhos auxiliares com cuja ajuda a secreção é tirada da glândula e transmitida ao ar.

c) Aparelhos de proteção: nos órgãos odoríferos dos machos os aparelhos de proteção servem para garantir a manutenção da espécie e evitar cruzamentos entre diferentes espécies. Por isso, o grau de evolução dêsses aparelhos protetores tem uma grande importância para os órgãos odoríferos encontrando-se, como em outros aparelhos auxiliares, muitos caminhos que conduzem à uma função altamente desenvolvida.

d) Possibilidades para o contrôle da função, i.é, a possibilidade de produzir a secreção em volume aumentado sòmente em época de necessidade fisiológica evitando e diminuindo em outras épocas a evaporação. Quanto mais completo é um órgão tanto maior é o contrôle da sua função. Devido à esta possibilidade o macho é capaz de produzir o material aromático por choque para atingir o limite mínimo do estímulo da fêmea para a copulação.

Tomando em consideração êstes pontos é apresentada uma tabela (tab. 2) com o confronto dos órgãos odoríferoes das formas diurnas e noturnas tanto quanto elas foram descritas até hoje. A intensidade do efeito da glândula faz-se com respeito à estrutura e tamanho relativo tanto da glândula como dos aparelhos auxiliares. É de importância a estrutura mais fina das cerdas distribuidoras pois da superfície total de tôdas as cerdas, de sua capacidade, depende direitamente a quantidade de gás do material aromático transmitido ao ar. Os órgãos odoríferos constantes da tabela 2 representam os tipos de estrutura destes órgãos até hoje conhecidos não constando apenas poucos tipos ainda duvidosos. Da tabela 2 resulta uma classificação do órgão em 4 valores (I-IV), de modo que o valor I designa os aparelhos mais complicados, vide o gráfico (fig. 2).

RESUMO

São determinadas as seguintes regras sôbre a função dos órgãos odoríferos dos machos dos Lepidópteros:

1.ª regra: A secreção das glândulas age em forma de gás sôbre a fêmea diminuindo a reação normal de fuga e provocando a disposição e preparação para a copulação.

2.ª regra: Os órgãos odoríferos nos machos de um grupo de espécies parentes encontram-se constantemente nos mesmos órgãos possuindo o mesmo tipo de estrutura (constância orgânica).

3.ª regra: As partes quitinosas (escamas odoríferas, cerdas distribuidoras, inserções etc.) são especificadas para cada espécie (constância de forma).

4.ª regra: O grau de desenvolvimento e com isto o grau de eficiência dos órgãos odoríferos dos Lepidópteros noturnos é sempre mais elevado do que os dos diurnos.

TABELA 1

Exemplos de constância orgânica dos órgãos odoríferos masculinos.

SISTEMÁTICA	Situação do órgão odorífero
Lycaenidae:	
Thecla spec.	Manchas odoríferas nas asas
Lycaeninae	Escamas odoríferas dispersas nas asas
Pieridae	Filas de escamas odoríferas nas asas
Papilionidae:	
grupo de *Polydamus*	Glândula num enrolamento da asa
grupo de *Ascanius*	idem com feltro de cabelo
Hesperidae:	
Pamphilinae	Glândulas num sulco da asa anterior com feltro de cabelo
Hespereinae	Glândulas nas saliências do metatórax, PD nas tíbias posteriores e glândulas na dobra costal da asa anterior
Pyrrhopyginae	Glândulas no metatórax, PD nas asas posteriores
Brassolidae	Área glandular nos lados do abdomen, PD nas asas posteriores
Nymphalidae:	
Nymphalinae	Sulcos odoríferos na nervatura das asas
Heliconiinae	Filas de covas com glândulas na nervatura das asas
Danaidae:	
Danainae et Lycoreinae	Glândulas nas dobras das asas posteriores e tubos protráctеis no fim do abdomen
Ithomiinae	Mancha odorífera com PD no bordo anterior da asa posterior
Hepialidae	Glândulas com PD nas tíbias posteriores modificadas
Geometridae:	
grupo de *Acidalia*	Glândulas nas dobras da base do abdomen, PD nas tíbias posteriores
grupo de *Pantherodes*	Glândulas num sulco das tíbias posteriores com PD
Phycitinae:	
Aphomia et Galleria	Glândulas nas dobras das asas anteriores com feltro de cabelo
Plodia et Ephestia	Glândulas nos enrolamentos do bordo anterior da asa anterior
Noctuidae:	
grupo de *Erebus*	Glândulas num sulco das tíbias posteriores com PD
grupo de *Mocis*	Glândulas no tórax, PD numa saliência do protórax
Hadeninae	Glândulas nas dobras do abdomen, PD no 1.º segmento abdominal
grupo de *Catocala*	Glândulas e PD nas tíbias
Sphingidae	Glândulas e PD nos lados do abdomen

TABELA 2

Confronto dos tipos de estrutura dos órgãos odoríferos nos Lepidópteros diurnos e noturnos. CO — células odoríferas concentradas, N — hábito noturno, ST — células odoríferas espalhadas entre células de outra forma, T — hábito diurno, PD — pincel-distribuidor.

SISTEMÁTICA	Hábito	Posição das células	Aparelhos auxiliares	Aparelhos de proteção	Contrôle de função	Valores
Coenonympha pamphilus	T	ST	escamas odoríferas	escamas protetoras	passivo II	IV
Lycaeninae	T	ST	escamas odoríferas	escamas protetoras	passivo II	IV
Epinephele (Satyridae)	T	ST	escamas odoríferas	escamas protetoras	passivo II	IV
Cosmosoma ignidorsia (Syntomidae)	T	CO	escamas odoríferas	sulco na coxa	passivo II	IV
Pieridae	T	ST	escamas odoríferas	escamas protetoras	passivo II	IV
Hesperidae	T	CO	escamas odoríferas	dobra cuticular baixa	passivo I	III
Hesperidae	T	CO	escamas odoríferas e feltro de cabelo	escamas protetora	passivo I	III
Hesperidae	T	CO	escamas odoríferas e PD	escamas protetoras	activo I	III
Hesperidae	T	CO	escamas odoríferas e feltro de cabelo	enrolamento da asa	activo II	III
Hesperidae	T	CO	PD	células glandulares abaixadas	activo II	III
Danaidae	T	CO	escamas odoríferas e área evaporadora nua	dobra da asa	passivo I	III
Danaidae	T	CO	escamas odoríferas e PD	asa de cobertura	activo I	III
Heliconiinae	T	CO	escamas odoríferas	escamas protetoras, glândulas abaixadas em covas	passivo I	III
Brassolidae	T	CO	área evaporadora nua, inserção móvel	área da asa	passivo I	III
Brassolidae	T	CO	escamas odoríferas e PD	escamas protetoras e dobra baixa	activo I	III
Brassolidae	T	ST	escamas odoríferas	escamas protetoras	passivo II	IV
Papilionidae	T	CO	área evaporada nua	enrolamento da asa	activo I	III
Papilionidae	T	CO	feltro de cabelo	enrolamento da asa	activo I	III
Danaidae	T	CO	PD	tubo retráctil	activo II	II
Nymphalidae	T	CO	escamas odoríferas	escamas protetoras e sulco na asa	passivo I	III
Satyridae	T	CO	escamas odoríferas	parte da asa ligeiramente côncava	passivo II	IV
Nymphalidae	T	CO	escamas odoríferas	asa de proteção	passivo I	IV
Noctuidae	N	CO	escamas odoríferas e PD	sulco da tíbia	activo II	I
Noctuidae	N	CO	escamas odoríferas e PD	sulco no abdomen	activo II	I
Noctuidae	N	CO	escamas odoríferas e PD	escamas protetoras	activo II	I
Noctuidae	N	CO	escamas odoríferas e PD	dobra da asa	activo II	I
Noctuidae	N	CO	escamas odoríferas e PD	bolsa no tórax	activo II	I
Noctuidae	N	CO	escamas odoríferas e PD	bolsa no abdomen	activo II	I

(Continuação da Tabela 2)

SISTEMÁTICA	Hábito	Posição das células	Aparelhos auxiliares	Aparelhos de proteção	Contrôle de função	Valores
Noctuidae	N	CO	escamas odoríferas e PD	sulco no tórax	activo II	I
Noctuidae	N	CO	feltro de cabelo	enrolamento da asa	activo I	II
Noctuidae	N	CO	escamas odoríferas e PD	dobra baixa da tíbia	activo I	II
Geometridae	N	CO	PD	bolsa no abdomen	activo II	I
Geometridae	N	CO	escamas odoríferas e PD	sulco na tíbia	activo II	II
Pyralidae	N	CO	feltro de cabelo	dobra da asa	activo I	I
Pyralidae	N	CO	cerdas odoríferas	dobra costal	activo II	I
Pyralidae	N	CO	cerdas odoríferas	bolsa da asa	activo I	I
Arctiidae	N	CO	PD	tubo protráctil	activo II	I
Cosmosoma auge (*Syntomidae*)	N	CO	feltro de cabelo	dobras do abdomen	activo II	I
Sphingidae	N	CO	PD	dobra do abdomen	activo II	II
Hepialidae	N	CO	PD	glândulas abaixadas na tíbia	activo II	I

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Fig. 1. — Formas de escamas odoríferas de diferentes *Nymphalidae*. a) *Dione vanillae*, 350 micra, b) *Colaenis phaetusa*, 126 micra, c) *Argynnis alcestis*, 165 micra, d) *Eueides aliphora*, 80 micra, e) *E. pavana*, 110 micra, f) *E. dianassa*, 100 micra, g) *Heliconius sara*, 75 micra, h) *H. narcaea*, 80 micra, i) *Dione juno*, 160 micra.

Fig. 2. — Frequência dos tipos de órgãos em formas diurnas e noturnas I — IV valores: I alta evolução, estrutura complicada, IV tipo mais simples. 1 — 14 número dos tipos de estrutura. N Lepidópteros, T diurnos.

Erklaerung der Abbildungen:

Fig. 1: Duftschuppenformen verschiedener *Nymphalidae*. a) *Dione vanillae*, 350 micra, b) *Colaenis phaetusa*, 125 micra, c) *Argynnis alcestis*, 165 micra, d) *Eueides aliphora*, 80 micra, e) *E. dianassa*, 100 micra, g) *Heliconius sara*, 75 micra, h) *H. narcaea*, 80 micra, i) *Dione juno*, 160 micra.

Fig. 2: Haeufigkeit der Organtypen bei Tag- und Nachteschmetterlingen. I — IV Bewertungsgruppen: I hochentwickelter, komplizieter Bau, IV einfachster Typ. 1 — 14 Anzahl der Bautypen. N: Nachtschmetterlinge, T: Tagschmettedlinge.

Fig. 1

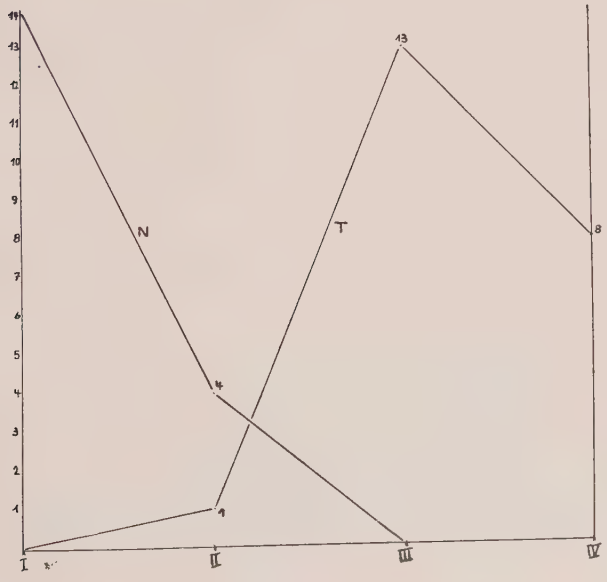


Fig. 2

(Fortsetzung der Tabelle 2)

SYSTEM	Lebens-weise	Lage der Zellen	Hilfsapparate	Schutzeinrichtungen	Funktions-lenkung	Bewer-tung
Noctuidae	N	CO	Duftschuppen und VP	Rinne des Thorax	aktiv II	I
Noctuidae	N	CO	Haarfilz	Einrollung des Fluegels	aktiv I	II
Noctuidae	N	CO	Duftschuppen und VP	flache Falte der Tibie	aktiv I	II
Geometridae	N	CO	VP	Tasche des Abdomens	aktiv II	I
Geometridae	N	CO	Duftschuppen und VP	Rinne der Tibie	aktiv II	II
Pyralidae	N	CO	Haarfilz	Falte des Fluegels	aktiv I	I
Pyralidae	N	CO	Duftborsten	Costalumschlag	aktiv II	I
Pyralidae	N	CO	Duftborsten	Tasche des Fluegels	aktiv I	I
Arctiidae	N	CO	VP	ausstuelpbare Roehre	aktiv II	I
Cosmosoma auge (*Syntomidae*)	N	CO	Haarfilz	Falten des Abdomens	aktiv II	I
Sphingidae	N	CO	VP	Falte des Abdomens	aktiv II	II
Hepialidae	N	CO	VP	Druesen versenkt in Tibie	aktiv II	I

Allgemeine Betrachtungen ueber die maennlichen Sexualduftorgane der Lepidoptera

Von

Rudolf Barth

(mit 2 Abbildungen und 2 Tabellen)

Beim Studium der maennlichen Sexualduftdruesen ergeben sich immer mehr Anhaltspunkte fuer die begruendete Ansicht, dass diese Organe im Leben der *Lepidoptera* und anderer Insekten eine wichtige Rolle spielen. Nach dem heutigen Stand unseres Wissens ueber die Bedeutung der Duftstoffe im Verhalten der beiden Geschlechter zu einander werden im allgemeinen die weiblichen Druesen als Lockdruesen, die maennlichen als Werbedruesen aufgefasst. Die Lockdruesen produzieren Sekrete, auf deren Reize hin die Maennchen sich den Weibchen aus mehr oder weniger grossen Entfernungen naehern. Arten mit grossraeumiger Lebensweise besitzen im weiblichen Geschlecht umfangreiche Druesenanlagen und dem entsprechend sind die maennlichen Antennen dicht mit Chemorezeptoren bezetzt, um noch aus groesseren Entfernungen die Duftsignale aufzufangen und ihnen zielsicher entgegen zu fliegen. Die maennlichen Duftorgane in dieser Gruppe sind ebenfalls gross, auch wenn das Tier eine geringe Koerpergroesse hat. Bei Arten mit kleinem Lebensraum liegen die Verhaeltnisse umgekehrt.

Die Suchbewegungen der Maennchen setzen erst dann ein, wenn ein bestimmter Konzentrationsgrad des Duftstoffes in der Luft vorhanden ist und dadurch eine Reizschwlle im Maennchen ueberschritten wird. Dabei bewegt sich das Tier dem Konzentrationsgefaelle entgegen, die Suchbewegung ist damit als positive Chemotaxie gekennzeichnet (siehe hierzu die Arbeiten von Barth 1937, Lehmensick und Liebers 1938, Magnus 1950). An einer bestimmten Stelle der Konzentration des Duftgases des Weibchens wird im Maennchen wiederum eine Reizschwelle ueberschritten, durch die typische "Balzerscheinungen" ausgeloest werden, bestehend aus charakteristischen Bewegungen und Stellungen des Maennchens und begleitet von verstaerkter Taetigkeit seiner Sexualduftdruesen. Der Effekt dieses aromatischen (oft fuer das menschliche Geruchsorgan wahrnehmbaren) Duftstoffes (Barth 1952) auf das Weibchen bedingt bei diesem die Bereitschaft zur Kopulation, die sich in typischen Bewegungen und Stellungen ausdrueckt, die

(Fortsetzung der Tabelle 2)

SYSTEM	Lebens-weise	Lage der Zellen	Hilfsapparate	Schutzeinrichtungen	Funktions-lenkung	Bewer-tung
Noctuidae	N	CO	Duftschuppen und VP	Rinne des Thorax	aktiv II	I
Noctuidae	N	CO	Haarfilz	Einrollung des Fluegels	aktiv I	II
Noctuidae	N	CO	Duftschuppen und VP	flache Falte der Tibie	aktiv I	II
Geometridae	N	CO	VP	Tasche des Abdomens	aktiv II	I
Geometridae	N	CO	Duftschuppen und VP	Rinne der Tibie	aktiv II	II
Pyralidae	N	CO	Haarfilz	Falte des Fluegels	aktiv I	I
Pyralidae	N	CO	Duftborsten	Costalumschlag	aktiv II	I
Pyralidae	N	CO	Duftborsten	Tasche des Fluegels	aktiv I	I
Arctiidae	N	CO	VP	ausstuelpbare Roehre	aktiv II	I
Cosmosoma auge (*Syntomidae*)	N	CO	Haarfilz	Falten des Abdomens	aktiv II	I
Sphingidae	N	CO	VP	Falte des Abdomens	aktiv II	II
Hepialidae	N	CO	VP	Druesen versenkt in Tibie	aktiv II	I

Allgemeine Betrachtungen ueber die maennlichen Sexualduftorgane der Lepidoptera

Von

Rudolf Barth

(mit 2 Abbildungen und 2 Tabellen)

Beim Studium der maennlichen Sexualduftdruesen ergeben sich immer mehr Anhaltspunkte fuer die begruendete Ansicht, dass diese Organe im Leben der *Lepidoptera* und anderer Insekten eine wichtige Rolle spielen. Nach dem heutigen Stand unseres Wissens ueber die Bedeutung der Duftstoffe im Verhalten der beiden Geschlechter zu einander werden im allgemeinen die weiblichen Druesen als Lockdruesen, die maennlichen als Werbedruesen aufgefasst. Die Lockdruesen produzieren Sekrete, auf deren Reize hin die Maennchen sich den Weibchen aus mehr oder weniger grossen Entfernungen naehern. Arten mit grossraeumiger Lebensweise besitzen im weiblichen Geschlecht umfangreiche Druesenanlagen und dem entsprechend sind die maennlichen Antennen dicht mit Chemorezeptoren bezetzt, um noch aus groesseren Entfernungen die Duftsignale aufzufangen und ihnen zielsicher entgegen zu fliegen. Die maennlichen Duftorgane in dieser Gruppe sind ebenfalls gross, auch wenn das Tier eine geringe Koerpergroesse hat. Bei Arten mit kleinem Lebensraum liegen die Verhaeltnisse umgekehrt.

Die Suchbewegungen der Maennchen setzen erst dann ein, wenn ein bestimmter Konzentrationsgrad des Duftstoffes in der Luft vorhanden ist und dadurch eine Reizschwlle im Maennchen ueberschritten wird. Dabei bewegt sich das Tier dem Konzentrationsgefaelle entgegen, die Suchbewegung ist damit als positive Chemotaxie gekennzeichnet (siehe hierzu die Arbeiten von Barth 1937, Lehmensick und Liebers 1938, Magnus 1950). An einer bestimmten Stelle der Konzentration des Duftgases des Weibchens wird im Maennchen wiederum eine Reizschwelle ueberschritten, durch die typische "Balzerscheinungen" ausgeloest werden, bestehend aus charakteristischen Bewegungen und Stellungen des Maennchens und begleitet von verstaerkter Taetigkeit seiner Sexualduftdruesen. Der Effekt dieses aromatischen (oft fuer das menschliche Geruchsorgan wahrnehmbaren) Duftstoffes (Barth 1952) auf das Weibchen bedingt bei diesem die Bereitschaft zur Kopulation, die sich in typischen Bewegungen und Stellungen ausdrueckt, die

Fluchttreaktion verringert und zuletzt verhindert. Durch bestimmte Beruehrungsreize, hervorgerufen durch das Maennchen, werden die Reaktionen des Weibchens verstaerkt (MAGNUS 1950). Diese Darlegungen beziehen sich ausschliesslich auf nachts fliegende Schmetterlinge. Bei den am Tage fliegenden Formen entfaellt groessten Teils die Lockwirkung der weiblichen Druesen, dafuer tritt als adaequater Reiz die optische Wahrnehmung von Bewegung, Farbe und Form, durch die das Maennchen zum Weibchen gefuehrt wird. Die Wirkung der maennlichen Druesen ist dieselbe wie bei naechtlich lebenden Arten. Ausnahmen von dieser Regel, dass naemlich das Maennchen der anlockende Teil ist, sind von *Hepialus hectus* (DEEGENER 1902) und von *Aphomia gularis* (BARTH 1937) bekannt geworden.

In der Arbeit ueber das maennliche Duftorgan von *Caligo arisbe* weist BARTH (1953) darauf hin, dass die Duftorgane der Maennchen der *Lepidoptera* innerhalb einer mehr oder weniger weitgefassten Gruppe (Familie oder Unterfamilie) sich immer an einem bestimmten Organ ausgebildet haben unter der Voraussetzung, dass die Lebensweise der Arten annaehernd die gleiche ist. Man kann somit von einer "Organkonstanz" sprechen. Zum Beweis dieser Regel wird eine Zusammenstellung in diesem Sinne gegeben. Gleichzeitig laesst sich hierzu feststellen, dass die Ausbildung der Organe bei den Arten einer solchen Gruppe immer demselben Grundplan folgt. (siehe hierzu Tabelle 1).

Diese Regel laesst interessante phylogenetische Rueckschluesse zu: In der Familie *Hesperidae* (Tabelle 1) muessen sich die drei Unterfamilien fruehzeitig von einander geloest haben, da in ihnen jeweils ein Typ von Duftorganen verwirklicht worden ist. Da aber gewisse Zusammenhaenge zwischen *Hesperiinae* und *Pyrrhopyginae* bestehen, ist zu folgern, dass sich die Unterfamilie *Pamphilinae* schon vor der Trennung der erstgenannten Gruppen selbstaendig gemacht hat. Einer Familie mit mehreren Gruppen verschiedener Organtypen muessen wir ein groesseres Alter zuschreiben als einer solchen mit einheitlichem Bauplan. Auf der anderen Seite weist diese Erscheinung auf einen polyphyletischen Ursprung hin. Hier sei besonders auf die heteronomen *Noctuidae* mit zahlreichen Organtypen und als Gegensatz dazu auf die homonomen *Sphingidae* mit einheitlichem Organtyp aufmerksam gemacht.

In der Beschreibung der Duftorgane der *Heliconiinae* gibt BARTH (1952) zahlreiche Beispiele ueber die Konstanz der Formen der Duftschuppen innerhalb der Arten und damit von der Artspezifitaet dieser Formen. Sogar bei sehr nahe verwandten Arten waren konstante Unterschiede in der Form und Groesse der Duftschuppen festzustellen. Aus anderen Arbeiten ergibt sich, das auch bei anderen systematischen Gruppen solche Unterschiede bestehen, die die Regel der artspezifischen Formen chitinoeser Teile der Duftorgane bestaetigen: Z. B. die unterschiedliche Ausbildung der Schuppenformen bei Hesperidae und der Insertionen der Duftschuppen bei *Opsiphanes* und *Caligo* (BARTH 1952, 1953), die feinere Struktur der Verteilerborsten nahe miteinander verwandter Noctuidenarten (eigene unveroeffentlichte Beoachtungen), die unterschiedlichen Formen der Insertionsstiele von Duftschuppen

der *Pieridae*. Als Demonstration dient die Abb. 1 mit verchiedenen Duftschuppenformen einiger *Nymphalidae*.

Es ergibt sich der berechtigte Schluss aus diesen Erwaegungen, dass die Merkmale der Duftorgane wegen ihrer Artspezifitaet dazu dienen koennen, in systematischer Hinsicht als Hilfsmittel zweifelhafte Faelle (Bildung von Unterarten u. a.) zu klaeren.

Eine vergleichende Betrachtung der bisher beschriebenen maennlichen Duftorgane der *Lepidoptera* ergibt die auffallende Feststellung, dass die naechtlich fliegenden Arten im Durchschnitt wesentlich vollkommener ausgebildete Duftorgane besitzen als die am Tage regen Arten. Hierdurch wird die Schlussfolgerung nahe gelegt, dass den im Hellen lebenden Arten nicht allein zum Erkennen des anderen Geschlechts, sondern auch zur Reizung des Geschlechtspartners wenigstens teilweise die optische Wahrnehmung von Farbe und Form zu Hilfe kommt. Auf der anderen Seite aber koennen sich die Nachtschmetterlinge nur des Geruchsinnes bedienen. Um dieser Regel eine Grundlage zu geben, ist einerseits der Begriff des "Ausbildungegrades" der maennlichen Duftorgane festzulegen, andererseits eine Gegenueberstellung der Tag- und Nachtschmetterlinge bezueglich des Ausbildungsgrades dieser Organe aufzustellen.

Bei der Beurteilung des Ausbildungsgrades sind folgende Punkte in Betracht zu ziehen: a) Lage der Druesenzellen, dabei ist zu beachten, ob die Druesenzellen wie bei einfachen Duftorganen verstreut oder aber wie bei hoeher entwickelten Apparaten konzentriert angeordnet sind und ein mehr oder weniger zusammenhaengendes einheitliches Gewebe bilden. b) Sicherstellung der Verdunstung des Druesensekrets, unter diesem Punkt sind die Hilfsapparate zu betrachten, mit deren Hilfe das Sekret der Druese entnommen und der Luft mitgeteilt wird. c) Schutzeinrichtungen, da es sich bei den Duftorganen der Maennchen um Organe zur Sicherstellung der Erhaltung der Art und teilweise auch zur Verhuetung von Artkreuzungen handelt, ist der Ausbildungsgrad der Schutzeinrichtungen fuer diese lebenswichtigen Organe von grosser Bedeutung und es finden sich wie bei den Hilfsapparaten viele Wege, die zu einer moeglichst hochentwickelten Funktion fuehren. d) Moeglichkeiten zur Funktionslenkung, hierunter ist die Moeglichkeit zu verstehen, das Sekret nur zur Zeit der physiologischen Notwendigkeit verstaerkt abzugeben und in der uebrigen Zeit die Verdunstung zu verhindern oder zu verringern. Je vollkommener ein Duftorgan entwickelt ist, desto groesser ist seine Funktionslenkung. Durch diese Eigenschaft ist das Maennchen in der Lage, seinen Duftstoff schockartig zu entsenden, um die Reizschwelle des Weibchens fuer die Kopulationsbereitschaft schnell und sicher zu erreichen.

Im Hinblick auf diese Punkte wird eine Tabelle (Tabelle 2) mit der Gegenueberstellung der Duftorgane der Tag- und Nachtschmetterlinge, soweit sie bisher bearbeitet worden sind, gegeben. Die Bewertung des Efektes der Druese geschieht im Hinblick auf Bau und relative Groesse sowohl der Druese wie auch der Hilfsapparate. Von Wichtigkeit fuer die Beurteilung ist der feinere Bau der Verteilerborsten, da von der Gesamtoberflaeche aller Borsten und von ihrer Kapazitaet die in der Zei-

teinheit der Luft mitgeteilte Gasmenge des Duftstoffes direkt abhaengig ist. Die in der Tabelle 2 angefuehrten Duftorgane stellen die hisher bekannten Bautypen dieser Organe dar, wobei nur einige noch zweifelhafte Typen fortgelassen sind.

Aus der Tabelle 2 ergibt sich bei einer Bewertung der Funktion des Organs in 4 Stufen (I — IV), wobei Stufe I die kompliziertesten Anlagen kennzeichnet, das Bild der beigefuegten graphischen Darstellung (Abbl. 2).

ZUSAMMENFASSUNG.

Ueber Bau und Funktion der maennlichen Duftorgane der *Lepidoptera* werden folgende Regeln aufgestellt:

1. Regel: Das Sekret der Druesen wirkt in Gasform auf das Weibchen, indem es dessen normale Fluchtreaktion verhindert und die Kopulationsbewegungen ausloest.

2. Regel: Die Duftorgane bei den Maennchen einer Gruppe verwandter Arten treten konstant auf den gleichen Organen auf und besitzen den gleichen Bautyp. (Organkonstanz)

3. Regel: Die chitinoesen Teile (Duftschuppen, Verteilerborsten, Insertionen u. a.) sind artspezifisch. (Formkonstanz)

4. Regel: Der Ausbildungsgrad und damit der Wirkungsgrad der Duftorgane naechtlich lebender *Lepidoptera* ist immer wesentlich hoeher als der der am Tage lebenden Arten.

LITERATUR.

(nur zitierte Arbeiten)
(apenas trabalhos citados)

BARTH, R., 1937, Herkunft, Wirkung und Eigenschaften des weiblichen Sexualduftstoffes einiger Pyraliden.
Zool.Jb. Anat. 58:297-325, 10 figs., 12 tab.

BARTH, R., 1937, Bau und Funktion der Fluegeldruesen einiger Mikrolepidopteren. Untersuchungen an den Pyraliden: *Aphomia gularis, Galleria mellonella, Plodia interpunctella, Ephestia elutella* und *Ephestia kuehniella*.

BARTH, R., 1952, Studien ueber die Duftorgane brasilianischer Hesperiden. I. Teil.
Mem. do Inst. Oswaldo Cruz 50:423-556, 47 figs., 1 tab.

BARTH, R., 1952, Die Hautdruesen des Maennchen von *Opsiphanes invirae isagoras* Fruhst. (*Lepidoptera, Brassolidae*).
Zool. Jb. 72:216-230, 11 figs., 1 tab.

BARTH, R., 1952, Die maennlichen Duftorgane einiger brasilianischer Heliconiinen.
Mem. do Inst. Oswaldo Cruz 50:335-522, 25 figs., 2 tabs.

BARTH, R., 1953, Das abdominale maennliche Duftogan von *Caligo* arisbe Hbn. (*Lepidoptera, Brassolidae*).
Mem. do Inst. Oswaldo Cruz, vol. 51.

DEEGENER, P., 1902, Das Duftorgan von *Hepialus hectus*.
Z. wiss. Zool. 71:276-295, 1 est.

LEHMENSICK, R. und LIEBERS, R., 1938, Beitraege zur Biologie der Mikrolepidopteren. Z. angew. Entom. 24.

MAGNUS, D., 1950, Beobachtungen zur Balz und Eiablage des Kaisermantels, *Argynnis paphia L.* (*Lepidoptera, Nymphalidae*).
Z. f. Tierpsychologie 7:435-449, 10 figs.

O órgão odorífero abdominal do macho de Caligo arisbe **Hbn.** (Lepidoptera, Brassolidae).

de

Rudolf Barth

(com 8 figuras)

A. Introdução
B. Observações morfológicas
C. Observações histológicas
D. Função
E. Resumo
F. Literatura

A. Introdução.

No caso que se encontram em espécies de um grupo de gêneros dos lepidópteros (família ou subfamília) nos machos glândulas odoríferas sexuais, pode-se tomar como regra que determinadas partes do corpo com certa constância servem, preferidamente, como portadores.

Nas *Nymphalidae* são as nervuras da parte superior da asa nas quais nas *Nymphalinae* são encontradas saliências odoríferas ou sulcos odoríferos abertros, nas *Heliconiinae* filas de covas odoríferas. Os machos das *Pieridae* com escamas odoríferas possuem-nas em filas entre as escamas de coloração das partes superiores das asas. Das *Hesperidae* as *Heeperiinae* têm escamas odoríferas em saliências do metatórax e um pincel-distribuidor nas tíbias posteriores e ainda no espaço costal da asa anterior uma dobra que inclue um aparelho odorífero. As *Pamphilinae* possuem um sulco odorífero na parte central da asa anterior e as *Pyrrhopyginae* placas do metatórax com escamas odoríferas e com isto combinado um pincel-distribuidor nas tíbias das pernas posteriores. Os órgãos odoríferos dos machos do grupo "Aristolochienfalter" das *Papilionidae* aparecem numa dobra da margem posterior da asa posterior. No grupo de *Ascanius* o órgão representa um fêltro de lã branca como aparelho de evaporação enquanto êste falta no grupo de *Polydamus*. Esta regra pode ser provada por inúmeros outros exemplos.

A formação do órgão em particular varia com intensidade maior ou menor. Encontra-se diferenças na forma das escamas ou cerdas odoríferas, na formação de evaporação, na extensão dos órgãos e na modalidade dos aparelhos portadores. Sempre pode-se observar das espécies de um grupo uma linha que conduz do grau mais baixo ao mais elevado de evolução o que indica que as respectivas espécies genèticamente pertencem uma à outra. Por êste método poderá assim em certos casos a observação dos órgãos odoríferos contribuir de esclarecer ligações de parentesco ou impedir a descrição inútil de subespécies duvidosas pois sempre encontram-se formações específicas para cada espécie.

Esta regra citada aplica-se também à família das *Brassolidae*. Com exclusão de outros campos glandulares hipodermais nas espécies de *Opsiphanes* podem-se encontrar em diversos gêneros desta família glândulas odoríferas cuja excreção poderá ser notado pelo órgão olfativo do homem, com placas de glândulas fechadas nas partes pleurais do 4.º e 5.º segmento abdominal as quais pertence ainda na parte anal da asa posterior um aparelho evaporador mais ou menos bem desenvolvido. Êste órgão já foi descrito para as espécies de *Opsiphanes* (Jurriaanse, Eltringham, Barth). Da mesma forma *Brassolis astyra* possue nesta localização numa formação simples e *Caligo arisbe* numa forma mais desenvolvida placas glandulares. Enquanto encontra-se na *Opsiphanes* nas asas posteriores e nos tergitos do abdomen ainda glândulas auxiliares hipodermais, *Brassolis astyra* e *Caligo arisbe* apresentam apenas as citadas placas glandulares. No contrário à *Opsiphanes* o aparelho evaporador especialisado na parte anal da asa posterior é pouco desenvolvido em *Caligo arisbe* enquanto êle parece ausente totalmente em *Brassolis astyra*.

Em seguida é apresentado o órgão odorífero do macho do *Caligo arisbe* interessando aqui principalmente a forma e a estrutura das escamas odoríferas, a histologia da célula glandular e o mecanismo da inserção móvel das escamas odoríferas. Correspondendo ao estado fisiológico do exemplar a escama pode deslisar para fora ou para dentro como isto já foi descrito para *Opsiphanes* (Barth, 1952). O caminho que conduz à esta finalidade no *Caligo* é tão diferente das condições correspondentes no *Opsiphanes* que a descrição do órgão de *Caligo* que conforme nosso conhecimento não foi estudado ainda, representa um enrequecimento dos nossos conhecimentos sôbre as múltiplas possibilidades do plano de estrutura aparentemente rígido do corpo do inseto.

B. Observações morfológicas.

Trata-se nêste órgão odorífero de um órgão composto constante das placas glandulares do abdomen e de um aparelho auxiliar para a evaporação da secreção nas asas posteriores.

As placas glandulares (fig. 1) estão situadas nas partes pleurais do 4.º e 5.º segmento abdominal. As medidas referem-se a um macho com as seguintes medidas da asa anterior:

Comprimento da articulação da asa até o fim de R_4 : 5,9 cm,
comprimento da articulação da asa até o fim de An_1 : 3,9 cm,
comprimento do fim de R_4 até o fim de An_1 : 4,2 cm.

Ambas as placas de glândulas quando vistas de cima são quase uniformemente ovais. A maior no 4.º segmento tem os diâmetros de 2,81 mm e de 1,90 mm, a menor no 5.º segmento de 1,98 mm e 1,72 mm. A primeira está na sua extensão total na área do 4.º segmento, a última porém sòmente na parte anterior do 5.º segmento, uma grande parte (quando em repouso é a parte anterior da placa) está na membrana intersegmental entre o 4.º e 5.º segmento e só é visível de fora num caso de extensão máxima do corpo. Ambas as placas são incluídas por diversas filas de saliências finas em forma de anel (F) e apresentam uma separação nítida das partes hipodermais vizinhas e nuas. A cutícula das placas está coberta densamente com escamas odoríferas encostadas firmemente à área. O plano de inserção (fig. 2) mostra exclusivamente copos grandes de inserção com diâmetros de 20 micra a 25 micra os quais observam uma distância de 40 micra a 50 micra (medidas do centro ao centro). Em cada 1 mm^2 estão em média 500 inserções. Todas as quatro placas juntas têm uma superfície de quase 16,59 mm^2 devendo-se contar com 8 200 a 8 400 escamas odoríferas.

As escamas odoríferas são escamas ligítimas (fig. 3) cuja lamela superior tem estrias enquanto a sua lamela inferior consta apenas de uma membrana (fig. 3 UL). Entre as estrias muito finas das quais correspondem apenas 25 numa largura de escama de 100 micra, não existem conetivas. O espaço entre elas consta de uma membrana extremamente fina (M) que mostra nem poros nem perfurações e parece ser completamente homogênea. Entre ambas ás lamelas não existem trabéculas, o lume é completamente vazio servindo à secreção da glândula como depósito. Esta suposição é confirmada pela observação que a escama sêca forma numerosas dobras (fig. 3 a, F), que porém no animal vivo as escamas são estendidas em forma de uma vesícula e apresentam sempre um brilho húmido. A ausência do sistema de apôio na escama é um achado significativo. Escamas recentemente levadas numa lâmina e cobertas com uma lamínula arrebentam e em redor delas forma-se uma mancha de líquido íncolor. Num espaço de ar fechado é possível de cristalizar o líquido: Colocam-se na cova de uma lâmina cavada escamas frescas (20 a 50), a margem da cova é fechada com um anel de bálsamo de canadá a qual deitam-se a lamínula de forma que o espaço está hermèticamente fechado. Depois de algumas horas a lâmina é colocada por 2 a 3 horas na estufa a 60º. Aqui evapora fortemente o líquido. Em seguida refrescam-se primeiro a 40º e depois em temperatura ambiente. Nisto uma parte de líquido evaporado

sublima para cristais típicas e combinações cristalinas (fig. 5). Não é possível de concluir si se trata nêstes cristais do material aromático ou de resíduos.

A forma da escama é comprido-retangular, a ponta larga. A base é modificada pela inserção especialisada. Quase 50 micra da parte basal são separadas por um estreitamento de uma largura de 10 a 15 micra do corpo da escama. Esta parte é alargada em direção à base (BA) e em forma de funil (TR). A margem basal é irregular apresentando aumentos e anexos que podem medir a 30 micra. Os anexos não têm estrias. A função destas formações marginais deve ser a mesma como aquela descrita para as escamas odoríferas das *Heliconiinae*, i. é de fixar a escama na sua posição na área da asa (Barth, 1952). Da margem basal a parede penetra em forma de cone no funil até o estreitamento e o pedúnculo (ST) começa sòmente na profundidade do cone. Detalhes veja mais em baixo. A escama tem um comprimento total de 260 a 280 micra, a largura varia de acôrdo com o grau de formação das dobras entre 50 e 90 micras.

O aparelho auxiliar na asa posterior (fig. 6) consta de 4 filas de cerdas rígidas e de côr marrom (fig. 6 e 7) localisadas numa parte núa da área da asa. Esta parte está encostada quando em repouso aos lados abdominais com as placas das glândulas numa forma côncava. A área núa é circundada de um têreno de cerdas compridas (BOR). Si essas cerdas servem também como distribuidor do material aromático não está claro. As filas das cerdas estão imeditamente após a primeira nervura anal (An_1), no final do primeiro quarto do comprimento desta nervura. Elas são circundadas por uma área de cutícula nua e lisa que acompanha o primeiro têrço de nervura (em fig. 6 apontilhado) e tem um comprimento de quase 12 mm e uma largura de 5 a 6 mm. A An_1 nesta altura é mais fina e curvada para baixo de forma que a área nua forma uma cavidade plana em cujo centro encontra-se as filas das cerdas. Através da cavidade as cerdas quando em repouso estão encostadas à área da asa, quando a asa é estendida fortemente esta cavidade desaparece, as inserções são levantadas e com isto as cerdas colocadas quase verticalmente à área da asa. O efeito do aparelho auxiliar deve ser que a formação das cerdas retire a secreção das placas glandulares pelo efeito capilar com as asas recolhidas.

Daqui a secreção deve espalhar-se na área nua quando as cerdas são levantadas e abertas pois nêste momento acaba o efeito capilar. A observação dêste ponto no animal vivo mostra na área nua um brilho de humidade. Retirando cuidadosamente êste pedaço da área da asa pode-se sentir aqui o mesmo cheiro típico como nas placas glandulares separadas. A qualidade aromática deve-se designar como doce com gosto de sabão e é classificado pelos observadores em parte como agradável em parte como desagradável. Si as cerdas também como pincel-distribuidor deixam evaporar direitamente uma parte de secreção, deve-se considerar a sua finalidade principal de transportar a secreção das placas glandulares às áreas evaporantes. Pela distribuição

em filas o seu efeito capilar é aumentado. Dados sôbre as medidas resultam da seguinte tabela:

Número da fila	Número das cerdas	Comprimento das filas em micra	Comprimento em média das cerdas em mm	Distância da analis em micra	Distância entre as filas em micra
1	15	450	1,6	375	
					450
2	30	530	1,8	315	
					500
3	45	750	2,1	210	
					375
4	40	660	1,9	270	

C. Observações histológicas.

A hipoderme das placas glandulares consta exclusivamente de células glandulares às quais pertence cada vez uma célula de anel basal e degenerada. As células glandulares têm uma forma cúbica até prismática com uma largura de 35 a 50 micra e com uma altura de 50 a 80 micra. As medidas modificam-se com o estado fisiológico. No centro da área apical da glândula insere-se a escama odorífera. Em redor da inserção complicada (I) o conteudo da célula forma uma parte bem separada e em forma de cone com distribuição do plasma em forma dos raios (SF). Êstes raios são dirigidos para a abertura interna da inserção. A massa principal do plasma da célula está em redor do grande núcleo localisado quase no centro da célula formando um elipsóide com diâmetros de 15 a 20 e 30 a 35 micra. O eixo mais comprido está paralelo à membrana basal. Frenqüentemente a margem basal do núcleo tem ampliações irregulares (fig. 8).

A cromatina do núcleo é fôfa constando depois da fixação com ácido ósmico e coloração com hematoxilina férrica de grânulos de diversos tamanhos apoiados por uma rêde de cromatina. O plasma da zona central perto do núcleo é conforme o estado de secreção da célula denso e compacto ou cheio de vacúolos também de vários tamanhos dos quais encontram-se os maiores na margem da figura dos raios. Desta zona separa-se nìtidamente uma camada basal (bem clara depois da fixação de Carnoy) cuja plasma tem uma estrutura fibrilosa lembrando por seu aspecto ao ergastoplasma (ER) das células do pâncreas. As estriações estão verticais na membrana basal (BM). Entre as estriações podem ser diferenciadas em grande número e tama-

nho respeitável mitocóndrias (plastósomos) (PL) que constam de fios e ganchos granulados e estão colocados paralelamente às estriações ergastoplasmáticas.

Entre duas células glandulares vizinhas estão situadas apicalmente e com regularidade células degeneradas que devem ser consideradas como células de anéis basais (BZ) cujo plasma denso aproxima-se em cortes ótimos ao ângulo interno da inserção.

A inserção forma um copo de inserção largo (IB) que tem apenas um canal (I) curto e de lume grande. A parede do canal torna-se mais fina para o lado interno enquanto a endocuticula que corresponde normalmente a um têrço até um quarto da cutícula, termina e a exocutícula passa a ser muito fina. A exocutícula em forma de lamelas forma no fim do canal um aumento em forma de vesícula (KU) que penetra profundamente na célula apresentando no pólo basal uma grande abertura. Ao encontro desta quitinosa vesícula vão as estriações da figura plasmática dos raios (SF). Da margem externa do copo da inserção nasce formado sòmente pela camada externa da exocutícula, um cone quitinoso (CK) cuja superficie na ponta é virada para dentro e percorre daqui como túbulo fino com parede extremamente fina (abaixo de 0,2 micra) pelo centro o lume da inserção (RO). Na altura do canal de inserção o túbulo tem um aumento longitudinal. No seu fim êle vira para dentro passando para o pedúnculo da escama que agora de novo passa pelo túbulo ampliando-se no seu aumento também passando na ponta pela abertura do cone quitinoso para fora (SD). Nêste ponto o pedúnculo passa para a invaginação em forma de funil da parte basal da escama odorífera (TR) que de novo recebe o cone quitinoso da inserção. É um ótimo exemplo de constatar nêste objeto a continuidade da cutícula na parede do corpo do inseto e de observar que também formações complicadas são sempre o produto de evaginações e invaginações. É interessante que sempre na base do aumento do pedúnculo encontra-se uma massa irregular de uma substância não identificada que é tão grande que não pode penetrar na parte basal do pedúnculo.

D. Função.

Como no *Opsiphanes* (Barth, 1952) a inserção da escama odorífera é móvel tendo sido alcançado porém aqui a mesma finalidade por outro caminho. No caso de aumento de pressão da secreção o espaço interno da inserção enche-se com secreção a qual após tratamento com ósmio é visível. Se dando a mais pressão o pedúnculo sai do cone quitinoso da inserção até o aumento em forma de vesícula é apertado no cone quitinoso que torna-se mais estreito. Desta forma a abertura basal do pedúnculo é levantada do plasma da figura dos raios à qual encosta-se, quando em repouso, e a secreção poderá sair pelo pedúnculo até ficar cheio o espaço da escama e a invaginação basal da escama si ter aberta. Assim a pressão na parede da escama é igual a pressão da secreção. A perda de secreção devido a passagem pelas partes membra-

nosas da escama é compensada pela pressão da secreção. Um refluxo da secreção é impedido pela massa irregular acima citada na base do aumento em forma de vesícula. No final do período de secreção a base do pedúnculo vai novamente contra o plasma celular. Desta forma consegue-se uma emissão ao choque da secreção, uma vantagem de estímulo fisiológico ao contrário da emissão permanente da secreção em órgãos odoríferos mais primitivos.

E. Resumo.

1. O órgão odorífero do macho de *Caligo arisbe* é descrito morfológica e histològicamente.

2. O órgão consta de pares de placas glandulares de hipoderme com escamas odoríferas no quarto e quinto segmento do abdomen e de um aparelho auxiliar na asa posterior para a evaporação da secreção.

3. O aparelho auxiliar consta de 4 filas de cerdas e de uma área nua de evaporação com uma área em forma de anel com cerdas compridas.

4. Devido a falta de trabéculas as escamas odoríferas podem ser aumentadas em forma de vesícula.

5. O exame histológico demonstra nas células glandulares a presença de ergastoplasma e plastósomos grandes no pólo basal da célula.

6. A inserção é especialisada em alto grau. O pedúnculo da escama tem uma situação móvel o que facilita uma emissão da secreção em choque.

F. Literatura.

(veja parte alemã)

FIGURAS

Fig. 1: a) 2.º a 5.º segmento abdominal (IIa-Va), lado direito do corpo. Pontilhado: área cuticular nua. As placas glandulares são situadas no 4.º e 5.º segmento, no 5.º segmento a parte anterior da placa é situada na membrana intersegmental e é visível sòmente no abdomen extremamente estendido.

b) Corte longitudinal esquemático pelos lados do 3.º até 5.º segmento abdominal (correspondendo com a seta A em fig. 1 a). IIIa-Va: 3.º a 5.º segmento abdominal, DPI e DPII: primeira e segunda placa glandular, DS: escamas odoríferas, F: dobras, IM: membrana intersegmental.

Fig. 2: Esquema da inserção das escamas nas placas glandulares (área: 0,25 mm^2). Encontram-se sòmente grandes copos de inserção das escamas odoríferas.

Abb. 1: a) 2. bis 5. Abdominalsegment (IIa-Va), rechte Koerperseite. Punktiert: nackte Hautflaeche. Im 4. und 5. Segment liegen die Druesenplatten, im 5. Segment ist der vordere Teil der Platte auf der Intersegmentalmembran gelegen und nur bei uebernormal gestrecktem Abdomen sichtbar.

b) Schematischer Laengsschnitt durch die Seiten vom 3. bis 5. Abdominalsegment (entsprechend dem Pfeil A in Abb. 1. a) IIIa-Va: 3. bis 5. Abdominalsegment, DPI und DPII: 1. und 2. Druesenplatte, DS: Duftschuppen, F: Falten, IM: Intersegmentalmembran.

Abb. 2: Insertionsplan der Druesenplatten (Flaecheninhalt 0,25 mm^2). Es finden sich nur grosse Insertionsbecher von Duftschuppen.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

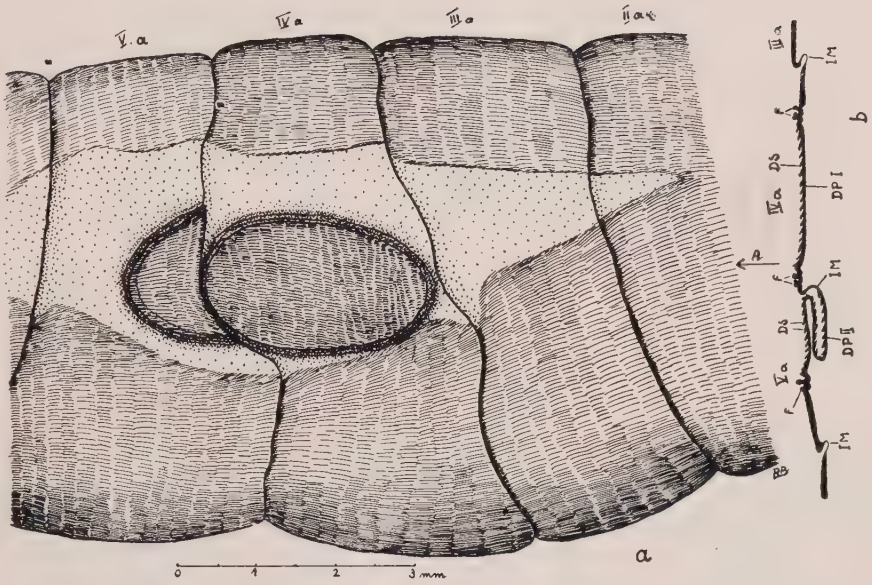


Fig. 1

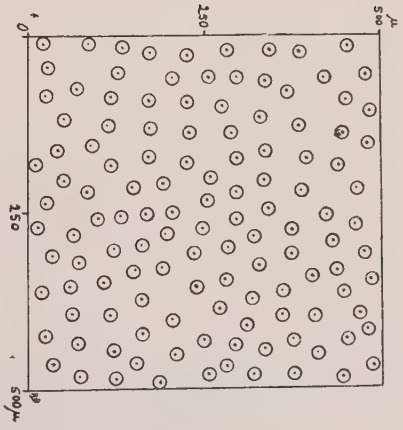


Fig. 2

Fig. 3: a) escama odorífera, b) e c) margens basais das escamas odoríferas, d) corte transversal pela uma escama odorífera. BA: parte basal, EI: estreitamento, F: dobras, M: membrana, RI: estrias, RI_1: estrias sôbresalentes, ST: pedúnculo, TR: invaginação coniforme, UL: lamela inferior, Z: anexos da base da escama.

Fig. 4: Esquema tridimensional do corpo da escama odorífera. M: membrana, RI: estrias.

Abb. 3: a) Duftschuppe, b) und c) Basalraender der Duftschuppen, d) Querschnitt durch eine Duftschuppe. BA: Basalteil, EI: Einschnuerung, F: Falten, M: Membran, RI: Rippen, RI_1: ueberagende Rippen, ST: Stiel, TR: trichterfoermige Einstuelpung, UL: Unterlamelle, Z: Anhaenge der Schuppenbasis.

Abb. 4: Blockdiagramm aus dem Koerper der Duftschuppe. M: Membran, RI: Rippen.

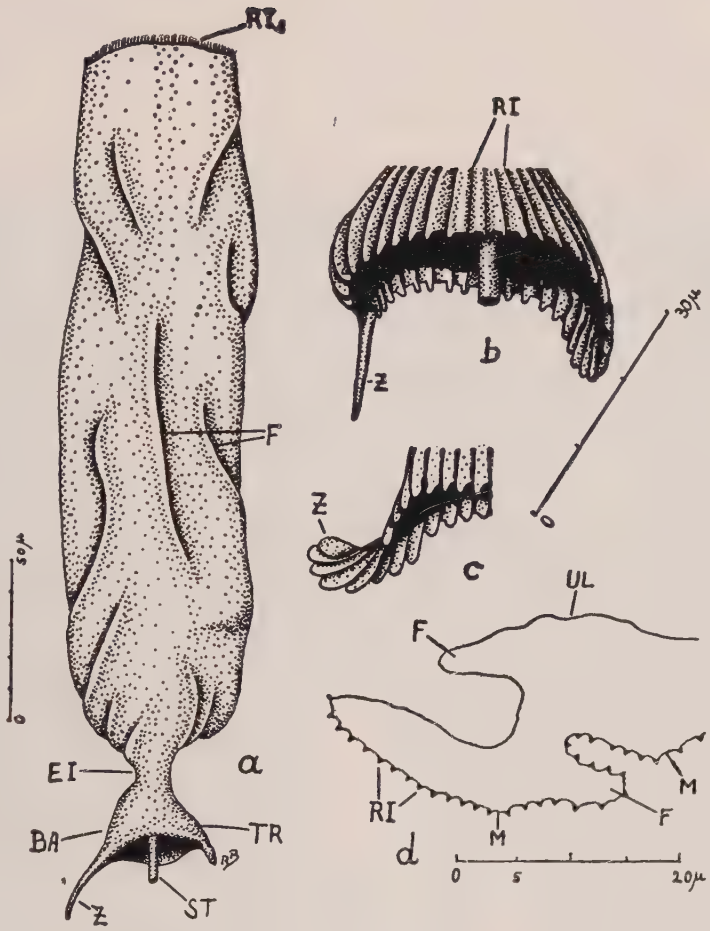


Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5: Cristal da secreção aromática ainda crescendo. Têm que juntar os pontos AA, BB e CC. Observação na luz polarisada. Aumento 1 000 vêzes.

Abb. 5: Noch wachsender Kristall aus dem Duftsekret. Die Punkte AA, BB und CC sind an einander zu setzen. Beobachtet im polarisierten Licht. Vergroesserung 1 000 fach.

Fig. 5

Fig. 6: Aparelho auxiliar para evaporação da secreção. Pontilhado: área cuticular nua. An_1: nervura anal da asa posterior, BOR: anel de cerdas.

Fig. 7: As 4 filas das cerdas do aparelho auxiliar em fig. 6 fortemente aumentadas. BO: cerdas.

Abb. 6: Hilfsapparat zur Verdunstung des Sekrets. Punktiert: nackte Hautstelle. An_1: 1. Analis des Hinterfluegels, BOR: Borstenring.

Abb. 7: Die 4 Borstenreihen des Hilfsapparates aus Abb. 6 staerker vergroessert. BO: Borsten.

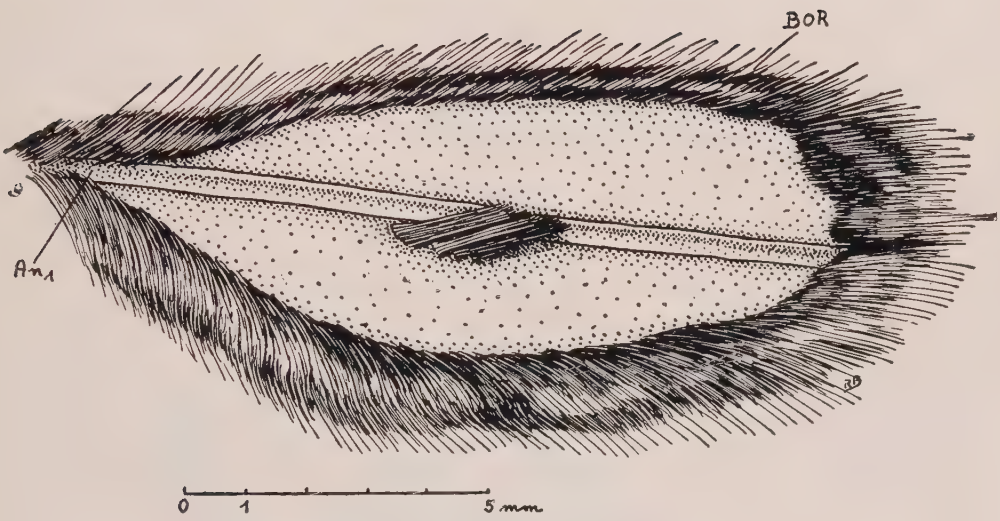


Fig. 6

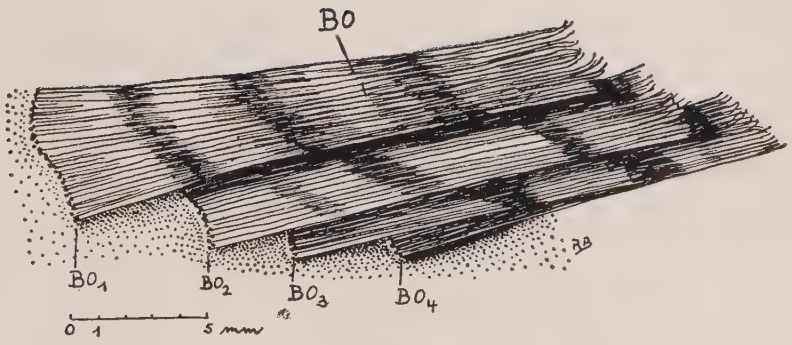


Fig. 7

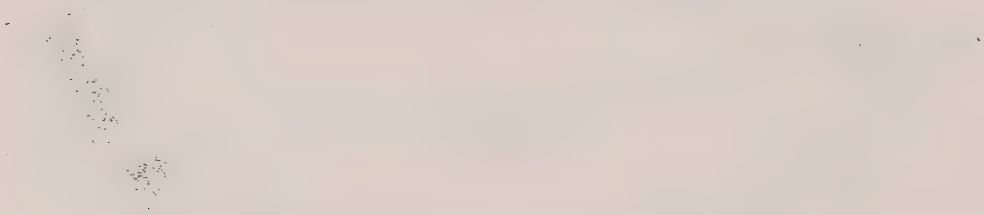


Fig. 8: Célula glandular da placa glandular do quarto segmento abdominal no corte transversal com inserção da escama odorífera. Fixação no vácuo com Fleming, grossura do corte 5 micra, coloração com hematoxilina férrica de Heidenhain — vermelho de congo — orange. BM: membrana basal, BZ: célula do anel basal, CK: cone quitinoso, DS: escama odorífera, ER: ergastoplasma, I: lume da inserção, K: depósito de material, KE: núcleo glandular, KU: aumento vesicular, PL: plastósomos, RO: túbulo quitinoso, SF: figura com raios, ST: pedúnculo, TR :aumento em forma de funil.

Abb. 8: Druesenzelle der Druesenplatte des 4. Abdominalsegments im Querschnitt mit Insertion der Duftschuppe. Fixierung im Unterdruck mit Fleming, Schnittdicke 5 micra, Faerbung Heidenhains Eisenhaematoxylin-Congorot-Orange. BM: Basalmembran, BZ: Basalringzelle, CK: Chitinkegel, DS: Duftschuppe, ER: Ergastoplasma. I: Insertionsraum, IB: Insertionsbecher, K: Materialeinlagerung, KE: Druesenzellkern, KZ: Kugelfoermige Erweiterung, PL: Plastosomen, RO: Chitinroehrchen, SF: Strahlenfigur, ST: Stiel, TR: Trichterfoermige Erweiterung.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

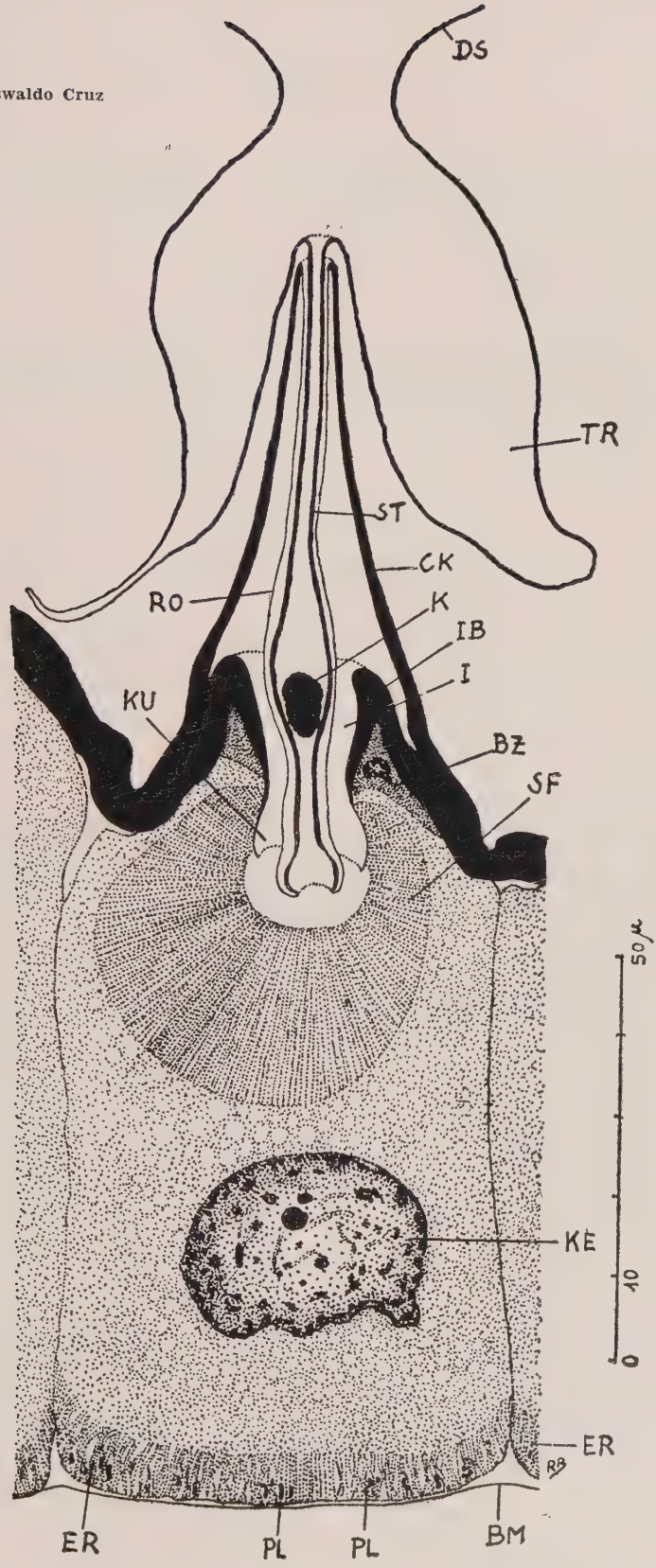


Fig. 8

Das abdominale Duftorgan des Maennchens von Caligo arisbe Hbn. (Lepidoptera, Brassolidae)

Von

Rudolf Barth

(Mit 8 Abbildungen im Text)

A. Einleitung
B. Morphologische Untersuchungen
C. Histologische Untersuchungen
D. Funktion
E. Zusammenfassung

A. Einleitung.

Finden sich bei den Angehoerigen einer Gattungsgruppe der *Lepidoptera* (Familie oder Unterfamilie) im maennlichen Geschlecht Sexualduftdruesen, so kann als Regel gelten, dass bestimmte Koerperteile mit einer gewissen Konstanz bevorzugt als Traeger dieser Organe dienen.

Bei den *Nymphalidae* sind es die Adern der Fluegeloberseite, auf denen bei den *Nymphalinae* Duftwuelste oder offene Duftrinnen, bei den *Heliconiinae* Duftgrubenreihen gefunden werden. Die Maennchen der *Pieridae* mit Duftschuppen tragen diese in Reihen zwischen den Konturschuppen der oberen Fluegelflaechen. Von den *Hesperidae* zeigen die *Hesperiinae* Duftschuppen auf Auswuechsen des Metathorax und einen Verteilerpinsel an den Hintertibien und darueber hinaus im Costalraum der Vorderfluegel eine Falte, die einen Duftapparat einschliesst. Die *Pamphilinae* besitzen eine Duftrinne im mittleren Teil des Vorderfluegels und die *Pyrrhopyginae* Platten des Metathorax mit Duftschuppen und hiermit kombiniert einen Verteilerpinsel an den Schienen der Hinterbeine. Die Duftorgane der Maennchen der Abteilung "Aristolochienfalter" der *Papilionidae* erscheinen in einer Hinterrandsfalte des Hinterfluegels, bei der *Ascanius*-Gruppe traegt das Organ einen Filz von weisser Wolle als Verdunstungsapparat, bei der *Polydamus*-Grupe fehlt dieser. Diese Regel kann durch zahlreiche weitere Beispiele belegt werden.

Die Ausbildung des Organs im einzelnen variiert in mehr oder weniger weitem Masse. Es finden sich Unterschiede in der Form der

Duftschuppen oder-borsten, in der Ausbildung des Verdunstungsapparates, in der Ausdehnung der Organe und in der Art der Schutzeinrichtungen. Immer aber laesst sich bei den Angehoerigen einer Gruppe eine Linie von der niedrigen zur hoeheren Entwicklungsstufe aufstellen, was auf eine genetische Zusammengehoerigkeit der betreffenden Arten hindeutet. Hierdurch kann in gewissen Faellen die Ueberpruefung der Duftorgane dazu beitragen, Verwandtschaftsverhaeltnisse zu klaeren oder — da sich immer artspezifische Bildungen finden — die unnuetze Aufstellung von Unterarten und zweifelhaften Arten zu verhindern.

Diese oben aufgestellte Regel trifft auch fuer die Familie *Brassolidae* zu. Abgesehen von anderen Hautdruesenfeldern bei *Opsiphanes*-Arten lassen sich bei verschiedenen Gattungen dieser Familie Duftdruesen, deren Sekrete vom menschlichen Geruchsorgan wahrgenommen werden koennen, als geschlossene Druesenplatten an den pleuralen Teilen des IV. und V. Abdominalsegments feststellen, zu denen im Analteil des Hinterfluegels ein mehr oder weniger hoch entwickelter Verdunstungsapparat gehoert. Dieses Organ wurde fuer *Opsiphanes*-Arten bereits beschrieben (JURRIAANSE, ELTRINGHAM, BARTH). Ebenfalls besitzen an dieser Stelle *Brassolis astyra* in einfacher Ausbildung und *Caligo arisbe* in hoeher entwickelter Form Druesenplatten. Waehrend sich an *Opsiphanes* auf den Hinterfluegeln und auf den Tergiten des Abdomens noch zusaetzliche Hautdruesen finden, haben *Brassolis astyra* und *Caligo arisbe* nur die genannten Druesenplatten. Im Gegensatz zu *Opsiphanes* ist der spezialisierte Verdunstungsapparat auf dem Analteil des Hinterfluegels bei *C. arisbe* nur schwach entwickelt, waehrend er bei *Br. astyra* ganz zu fehlen scheint.

Im folgenden wird das maennliche Duftorgan von *Caligo arisbe* dargestellt, wobei besonders die Form und der Bau der Duftschuppen, die Histologie der Druesenzelle und der Mechanismus der beweglichen Insertion der Duftschuppen interessiert. Je nach physiologischem Zustand des Tieres kann die Schuppe nach aussen oder innen gleiten, wie es schon fuer *Opsiphanes* (BARTH, 1952) beschrieben wurde. Der Weg, der zu diesem Ziele fuehrt, ist bei *Caligo* so verschieden von den entsprechenden Verhaeltnissen bei *Opsiphanes,* dass die Darstellung des Organs von *Caligo,* das bisher m. W. nicht bearbeitet worden ist, eine Bereicherung unserer Kenntnisse ueber die vielfaeltigen Moeglichkeiten des an sich starr erscheinenden Bauplanes des Koerpers der Insekten bietet.

B. Morphologische Untersuchungen.

Es handelt sich bei diesem Duftorgan um ein zusammengesetztes Organ bestehend aus den Druesenplatten des Abdomens und einem Hilfsapparat zur Verdunstung des Sekrets auf den Hinterfluegeln.

Die Druesenplatten (Abb. 1) liegen jederseits in den pleuralen Teilen des IV. und V. Abdominalsegments. Die folgenden Masse

beziehen sich auf ein Maennchen mit folgenden Ausmassen des Vorderfluegels:

Laenge vom Fluegelgelenk bis zum Ende von R_4 = 5,9 cm,
Laenge vom Fluegelgelenk bis zum Ende von An_1 = 3,9 cm,
Laenge vom Ende von R_4 bis zum Ende von An_1 = 4,2 cm.

Beide Druesenplatten sind im Aufblick fast gleichmaessig oval. Die groessere im Segment IV hat die Durchmesser von 2,81 mm und 1,90 mm, die kleinere im Segment V von 1,98 mm und 1,72 mm. Die erstere liegt in ihrer ganzen Ausdehnung auf der Flaeche des Segments IV, die letztere dagegen nur auf dem vorderen Teil des Segments V, ein grosser Teil (in der Ruhelage ist es die vordere Haelfte der Platte) liegt auf der Intersegmentalmembran zwischen Segment IV und V und ist nur bei extremer Streckung des Koerpers von aussen sichtbar. Beide Platten sind von mehreren Reihen feiner ringfoermiger Erhebungen (F) eingeschlossen und gegen die benachbarten, nackten Hautteile scharf abgegrenzt. Die Cuticula der Platten ist dicht mit Duftschuppen besetzt, die der Flaeche fest anliegen. Der Insertionsplan (Abb. 2) zeigt ausschiesslich grosse Insertionsbecher von 20 — 25 micra Durchmesser, die (von Zentrum zu Zentrum gemessen) in 40 — 50 micra Abstand stehen. Auf 1 mm^2 entfallen im Durchschnitt 500 Insertionen. Alle vier Platten zusammen haben einen Flaecheninhalt von etwa 16,59 mm^2, so dass mit einer Menge von 8 200 — 8 400 Duftschuppen zu rechnen ist.

Die Duftschuppen (Abb. 3) sind echte Schuppen, deren Oberlamelle Rippen traegt, waehrend ihre Unterlamelle nur aus einer Membran besteht (Abb. 3, UL). Zwischen den sehr schmalen Rippen, von denen nur 25 auf 100 micra Schuppenbreite entfallen, finden sich keine Konektive. Der Raum zwischen ihnen ist durch eine ueberaus duenne Membran (M) ausgefuellt, die weder Poren noch Durchbrueche zeigt und anscheinend vollstaendig homogen ist. Zwischen beiden Lamellen finden sich keine Trabekel, der Innenraum ist vollstaendig leer (Abb. 4) und dient dem Druesensekret als Sammelraum. Diese Annahme wird bestaetigt durch die Beobachtung, dass die trockene Schuppe zahlreiche Falten bildet (Abb. 3 a, F), dass aber am lebenden Tier die Schuppen blasig gespannt sind und immer einen feuchten Glanz tragen. Das Fehlen des Stuetzsystems in der Schuppe ist als bemerkenswerter Befund hervorzuheben. Frisch auf dem Objekttraeger gebrachte Schuppen, die mit einem Deckglaeschen belastet werden, platzen und um sie herum bildet sich ein Hof von farbloser Fluessigkeit. Unter Luftabschluss laesst sich die Fluessigkeit kristallisieren: In die Hoehlung eines Hohlschliff-Objekttraegers werden frische Duftschuppen gelegt (20 — 50 Stueck), der Rand der Hoehlung wird mit einem Ring von Kanadabalsam umgeben und ein Deckglaeschen aufgelegt, so dass der Hohlraum unter Luftabschluss steht. Nach einigen Stunden wird der Traeger fuer 2 — 3 Stunden in den Thermostat mit 60° gelegt. Hier verdunstet die Fluessigkeit stark. Danach folgt ein langsames Abkuehlen, zuerst auf dem Vorwaermer bei 40° und dann

bei Zimmertemperatur. Dabei sublimiert ein Teil der verdunsteten Fluessigkeit zu typischen Kristallen und Kristallkombinationen (Fig. 5). Ob es sich bei diesen Kristallen um den Duftstoff handelt oder um Restkoerper, ist nicht zu entscheiden.

Die Form der Schuppe ist lang rechteckig, die Spitze ist breit. Die Basis ist durch die spezialisierte Insertion modifiziert. Etwa 50 micra des basalen Teils sind durch eine Einschnuerung (EI) von 10 — 15 micra Breite gegen den Schuppenkoerper abgegrenzt. Dieser Teil erweitert sich zur Basis (BA) trichterfoermig (TR). Der basale Rand ist unregelmaessig und traegt Erweiterungen und Anhaenge (Z), die bis zu 30 micra lang sein koennen. Die Anhaenge besitzen keine Rippen. Die Funktion dieser Randbildungen duerfte die gleiche sein, wie sie fuer die Duftschuppen von Heliconiinen dargestellt wurde, naemlich die Schuppe in ihrer Lage auf der Fluegelflaeche zu fixieren (BARTH, 1952). Vom Basalrand dringt die Wandung kegelfoermig in den Trichter bis zur Einschnuerung hinein und erst in der Tiefe des Kegels setzt der Stiel (ST) an. Naeheres hierzu siehe weiter unten. Die Schuppe besitzt eine Gesamtlaenge von 260 — 280 micra, die Breite schwankt je nach dem Ausbildungsgrad der Falten zwischen 50 und 90 micra.

Der Hilfsapparat auf dem Hinterfluegel (Abb. 6) besteht aus 4 Reihen starrer, brauner Borsten (Abb. 6 und 7), die auf einem nackten Teil der Fluegelflaeche stehen. Dieser Teil liegt in der Ruhelage den Abdomenseiten mit den Druesenplatten unmittelbar an und ist dem entsprechend konkav. Die nackte Flaeche wird von einem Gebiet langer Borsten umgeben (BOR). Ob diese Borsten ebenfalls als Verteiler des Duftstoffes dienen, ist nicht klar ersichtlich. Die Reihen der Borsten liegen unmittelbar hinter der ersten Analader (An_1), am Ende des ersten Viertels der Laenge dieser Ader. Sie werden umgeben von einer nackten, spiegelnd glatten Hautsstelle, die das erste Drittel der Ader begleitet (in Ab. 6 punktiert) und etwa 12 mm lang und 5-6 mm breit wird. Die An_1 ist an dieser Stelle duenner und nach unten gewoelbt, so dass die nackte Flaeche eine flache Hoehlung bildet, in deren Mitte die Borstenreihen stehen. Durch die Woelbung liegen die Borsten in der Ruhelage der Fluegelflaeche eng an, bei starker Spreizung des Fluegels flacht sich die Woelbung durch die entstehende Spannung aus, die Insertionen werden aufgerichtet und damit die Borsten fast senkrecht zur Fluegelflaeche gestellt. Der Effekt des Hilfsapparates duerfte der sein, dass die Borstenformation durch Kapillaranziehungskraft bei zusammengelegten Fluegeln von den Druesenplatten Sekret aufsaugen. Von hier breitet es sich auf der nackten Flaeche aus, wenn die Borsten aufgerichtet und gespreizt sind, da in diesem Angenblick die Kapillarwirkung aufgehoben wird. Beobachtung dieser Stelle am lebenden Tier zeigt auf der nackten Flaeche einen Glanz von Feuchtigkeit. Extirpiert man vorsichtig dieses Stueck der Fluegelflaeche, so ist hier derselbe typische Geruch wahrzunehmen wie an den extirpierten Druesenplatten. Die Duftqualitaet ist als suesslichseifenartig zu bezeichnen und wird von den Beobachtern zum Teil als angenehm, zum Teil als unangenehm empfunden. Wenn auch die Borsten als Verteilerpinsel einen Teil des

Sekrets direkt verdunsten lassen, so ist doch als ihre Hauptaufgabe der Transport des Sekrets von den Druesenplatten zu den Verdunstungsflaechen zu betrachten. Durch die Anordnung in Reihen wird ihre Kapillaranziehungskraft erhoeht. Massangaben sind aus der folgenden Tabelle zu entnehmen:

Nummer der Reihe	Anzahl der Borsten	Laenge der Reihen in micra	Durchschnittliche Laenge der Borsten in mm	Abstand von der Analis in micra	Abstand den Reihen in micra
1	15	450	1,6	375	
					450
2	30	530	1,8	315	
					500
3	45	750	2,1	210	
					375
4	40	660	1,9	270	

C. Histologische Untersuchungen.

Die Hypodermis der Druesenplatten besteht ausschliesslich aus Druesenzellen, zu denen je eine degenerierte Basalringzelle gehoert. Die Form der Druesenzellen (Abb. 8) ist cubisch bis prismatisch mit 35 — 50 micra Breite und 50 — 80 micra Hoehe, die Masse aendern sich mit dem physiologischen Zustand. In der Mitte der Apikalflaeche der Zelle inseriert die Duftschuppe. Um die komplizierte Insertion (I) bildet der Inhalt der Zelle einen kugelfoermigen, wohl abgesetzten Teil mit strahliger Anordnung des Plasmas (SF), dessen Strahlen auf die innere Oeffnung der Insertion gerichtet sind. Die Hauptmasse des Zellplasmas umschliesst den annaehernd in der Zellmitte liegenden grossen Kern, der ein Elipsoid bildet mit 15 — 20 micra und 30 — 35 micra Durchmesser, die laengere Achse liegt der Basalmembran parallel. Haeufig zeigt der Basalrand des Kerns unregelmaessige Erweiterungen (s. Abb. 8).

Das Chromatin des Kerns ist aufgelockert und besteht nach Fixierung mit Osmiumsaeure und Faerbung mit Eisenhaematoxylin aus Koernern und Schollen, die durch ein Balkengeruest getragen werden. Das Plasma der kernnahen Mittelzone ist je nach Sekretionszustand der Zelle dicht und kompakt oder aber voll unterschiedlich grosser Vakuolen, von denen die groessten am Rande der Strahlenfigur gefunden werden. Von dieser Zone setzt sich deutlich eine basale Schicht (besonders deutlich nach Fixierung mit Carnoy) ab, deren Plasma eine faserige Struktur hat, die erscheinungsmaessig an das Ergastoplasma (ER) von Pankreaszellen erinnert. Die Streifen stehen senkrecht auf der Basalmembran (BM). Zwischen den Streifen lassen sich in grosser Anzahl und auffallender Groesse Mitochondrien (Plastosomen) (PL) differenzieren, die aus koernigen Faeden und Haken bestehen und parallel zu den ergastoplasmatischen Streifen gelagert sind.

Zwischen zwei benachbarten Druesenzellen liegen apikal regelmaessig degenerierte Zellen, die als Basalringzellen (BZ) zu deuten sind und deren dichtes Plasma an guenstigen Schnitten an den inneren Winkel der Insertion herantritt.

Die Insertion bildet einen breiten Insertionsbecher (IB), der nur einen kurzen, weitlumigen Kanal (I) besitzt. Die Wandung des Kanals wird nach innen zu duenner, indem die Endocubicula, die normalerweise 1/3 bis 1/4 der Cuticula ausmacht, endet und die Exocuticula sehr duenn wird. Die lamellenartige Exocubicula bildet am Ende des Kanals eine kugelfoermige Erweiterung (KU), die tief in die Zelle hineinragt und am basalen Pol eine grosse Oeffunug traegt. Gegen diese chitinoese Blase stossen die Fasern der plasmatischen Strahlenfigur (SF). Vom aeusseren Rand des Insertionsbechers entspringt, nur von der aeusseren Schicht der Exocuticula gebildet, ein Chitinkegel (CK), dessen Mantel an der Spitze nach innen eingestuelpt ist und von hier als duennes Roehrchen mit ueberaus duenner Wandung (unter 0,2 micron) zentral den Hohlraum der Insertion durchlaeuft (RO). In der Hoehe des Insertionskanals traegt das Roehrchen eine langgestreckte Erweiterung. An seinem Ende stuelpt es sich ein und geht in den Stiel der Schuppe ueber, der nun wiederum innen durch das Roehrchen laeuft, sich in dessen Erweiterung ebenfalls vergroessert und an der Spitze durch die Oeffnung des Chitinkegels nach aussen tritt (ST). An dieser Stelle geht der Stiel in die trichterfoermige Invagination des basalen Teils der Duftschuppe ueber (TR), die wiederum den Chitinkegel der Insertion in sich aufnimmt. Es ist an diesem Objekt beispielhaft die Kontinuitaet der Cuticula an der Koerperwand der Insekten zu konstatieren und festzustellen, dass auch komplizierte Bildungen immer das Produkt von Ein — und Ausstuelpungen sind. Beachtenswert ist, dass immer am Grund der blasigen Erweiterung des Stiels ein regelloser Klumpen einer nicht naeher zu kennzeichnenden Substanz (K) gelegen ist, der so gross ist, dass er nicht in den basalen Teil des Stiels eindringen kann.

D. Funktion.

Wie bei *Opsiphanes* (Barth, 1952) ist die Insertion der Duftschuppe beweglich, hier aber wird das gleiche Ziel auf anderem Wege erreicht. Bei Steigerung des Sekretdruckes fuellt sich der Innenraum der Insertion mit Sekret, das nach Osmiumbehandlung hier nachweisbar ist. Weiterem Druck nachgebend tritt der Stiel aus dem Chitinkegel der Insertion heraus, bis die blasige Erweiterung in dem sich konisch verengenden Chitinkegel eingeklemmt wird. Dadurch wird die basale Oeffnung des Stiels vom Plasma der Strahlenfigur, an die sie sich in der Ruhelage anlegt, abgehoben und das Sekret kann durch den Stiel abfliessen, bis sich der Schuppenhohlraum gefuellt und die basale Einstuelpung der Schuppe sich ausgebreitet hat. Die Wandspannung in der Schuppe ist damit gleich dem Sekretdruck geworden. Verlust an Sekret infolge Durchtritt durch die membranoesen Schuppenteile wird durch den Sekretdruck ausgeglichen. Ein Rueckfluss des Sekrets

wird durch die oben erwaehnte klumpige Masse am Grunde der blasigen Erweiterung verhindert. Am Ende der Sekretionsperiode stoesst die Basis des Stiels wieder gegen das Zellplasma. Auf diese Weise kommt eine stossweise Abgabe des Sekrets zu stande, ein reizphysiologischer Vorteil im Gegensatz zu gleichbleibender Abgabe des Sekrets bei primitiveren Duftorganen.

E. Zusammenfassung.

1. Es wird das Duftorgan des Maennchens von *Caligo arisbe* morphologisch und histologisch beschrieben.
2. Das Organ besteht aus paarigen Platten von Hautdruesen mit Duftschuppen im IV. und V. Segment des Abdomens und aus einem Hilfsapparat auf dem Hinterfluegel zur Verdunstung des Sekrets.
3. Der Hilfsapparat besteht aus 4 Reihen von Borsten und einer nackten Verdunstungsflaeche mit einem ringfoermigen Feld langer Borsten.
4. Durch den Mangel an Trabekeln sind die Duftschuppen blasig erweiterungsfaehig.
5. Die histologische Untersuchung ergibt in den Druesenzellen das Auftreten von Ergastoplasma und grossen Plastosomen am basalen Zellpol.
6. Die Insertion ist hochgradig spezialisiert. Der Schuppenstiel ist beweglich gelagert. Hierdurch wird eine stossweise Abgabe des Sekrets ermoeglicht.

F. Literatur.

BARTH, R., 1944, Die maennlichen Duftorgane einiger *Argynnis*-Arten. Zool. Jb. Anat., 68:332-362, 22 figs.

BARTH, R., 1949, Vergleichend morphologische Studien ueber die Dufschuppen der Pieriden *Pieris brassicae* und *Pieris napae* und der Satyrine *Coenonympha pamphilus*. Zool. Jb. Anat., 70:397-425, 31 figs., 1 tab.

BARTH, R., 1952, Die Hautdruesen des Maennchens von *Opsiphanes isagoras* Fruhst. (*Lepidoptera, Brassolidae*). Zool. Jb. Anat., 72:216-230, 11 figs., 1 tab.

BARTH, R., 1952, Die maennlichen Duftorgane einiger brasilianischer Heliconiinen. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 50:235-522, 25 figs., 2 tabs.

DIXEY, F. A., 1925, Development of scent-scales in *Pieris rapae*. Trans. Ent. Soc. London, Proc. LIX.

DIXEY, F. A., 1925, Scents in Canadian Butterflies. Trans. Ent. Soc. London, Proc. XXV.

EIDMANN, H., 1922, Die Durchlaessigkeit des Chitins bei osmotischen Vorgaengen. Biol. Zblatt, 42:429-434.

ELTRINGHAM, H., 1929, On the scent organs of *Opsiphanes cassiae lucúllus* Frusht. (Lep., Brassolidae). Trans. Ent. Soc. London, 77:1-4, 1 est.

JURRIAANSE, J. H., 1932, Some remarkes about the supposed scent organs of the genus *Opsiphanes*. Tijdschrift voor Entomologie, 22:147-151, 1 est. Referat in: The Entomologist, 57(1924):94-95, 1 fig.

Orgãos odoríferos masculinos de algumas Syntomidae Brasileiras (= Ctenuchidae; Lepidoptera).

de

Rudolf Barth

(com 15 figuras)

A. Observações gerais
B. Descrição dos órgãos odoríferos
1. Cosmosoma ignidorsia
2. Androcharta diversipennis
3. Cosmosoma auge
C. Resumo
D. Literatura
E. Abreviações nas figuras

A. Observações gerais.

Das *Syntomidae* encontradas no Distrito Federal a *Cosmosoma auge* é uma das espécies mais freqüentes. São encontradas ao lado de outros parentes desta família depois de uma chuva na luz solar forte em cantos protegidos de vento, ou em campos cobertos ligeiramente com vegetação quando elas procuram alimentar-se em Compositáceas e Umbelíferas. Pode-se observar as fêmeas na postura. Encontrou-se no macho do C. auge na base do abdomen um grande órgão odorífero composto num grau elevado de formação. O órgão em repouso é totalmente escondido por baixo do segundo ventrito. Dados sôbre a ampliação do segundo ventrito são fornecidas por Traudt em Seitz (1936-1938) (em tradução): "Os primeiros aneis abdominais têm nos machos de muito gêneros ventralmente uma grande tampa que em diversas espécies atinge quase a extremidade do abdomen". Na descrição da espécie lê-se em pág. 72 (em tradução): "A grande tampa abdominal do macho lateralmente de um branco prateado". Poude ser observado que freqüentemente também a margem posterior da tampa parecia branca provocado por uma parte de fêltro cabeludo branca que ocupa o interior da tampa.

A presença de um órgão odorífero com formação bem elevada em borboletas diurnas parece uma exceção da regra que Barth (1953) descreveu segundo qual tais órgãos são encontrados quase exclusiva-

mente nas borboletas noturnas (mariposas). Apesar que as *Syntomidae* pertencem ao grupo *Heterocera,* quase só noturnos, elas levam uma vida mais ou menos na luz do sol mostrando com isto uma ligação às *Zygaenidae* que são próximas elas.

Ao contrário ao órgão de *C. auge* *C. ignidorsia* possui um órgão odorífero de organização extremamente simples e pequeno. Êle consta de uma concentração de escamas odoríferas numa parte de fêmur anterior sem aparêlho auxiliar podendo ser apenas escondido em repouso numa cavidade da coxa. Também a *Androcharta diversipennis* tem um órgão odorífero simples formado de uma grande área odorífera na superfície da asa posterior dependendo como órgão protetor apenas da asa anterior só por qual a pequena asa posterior pode esconder-se completamente.

A comparação destas 3 espécies leva à suposição que existem diferenças biológicas com respeito ao início da copulação. Depois de inumerosas observações feitas durante um período superior a um ano em diversas horas do dia e em lugares diferentes perto do Rio de Janeiro conclui-se: Não foi observado em *C. auge* nenhuma copulação ou uma tentativa para isto, machos e fêmeas não preocupam-se mùtualmente mesmo encontrados na mesma inflorescência. Encontraram-se porém por diversas vêzes pares de *C. ignidorsia* em copulação. Os machos desta última espécie têm um vôo mais animado do que os de *C. auge.* Por várias vêzes foi observado que o macho tornou-se inquieto na presença da fêmea aproximando-se a esta com movimentos por choque das asas. A fêmea levantou-se para o vôo seguindo depois o macho também depois de algumas tentativas. Interessante é a observação que foram capturados machos de *C. auge* várias vêzes em luz da noite podendo ser encontrado também freqüentemente perto de instalações de luz. Observações biológicas em *A. diversipcnnis* não poderam ser feitas. Pode ser esclarecido apenas que estas mariposas foram observadas e capturadas só durante o dia o que deixa de supor que esta espécie aproxima-se ao modo de vida de *C. ignidorsia.*

De todo isso deve-se concluir-se que *C. ignidorsia* e *A. diversipennis* levam a maior parte da sua vida durante o dia enquanto *C. auge* movimenta-se durante o dia sob certas condições atmosféricas sòmente para a alimentação e a postura enquanto a procura do outro sexo e a copulação procede-se sòmente durante a noite. À isto corresponde o achado morfológico, i. é que *A. diversipennis* e *C. ignidorsia* tenham pequenos, *C. auge* grandes aparelhos odoríferos.

B. Descrição dos órgãos odoríferos.

1. *Cosmosoma ignidorsia.*

O órgão odorífero consta de uma área de escamas odoríferas na parte interna e anterior do fêmur anterior (fig. 1). Em comparação à fêmea o diâmetro do macho é neste ponto maior. O fêmur não sofreu outras modificações morfológicas. A área das escamas odoríferas

(DF) evidenciada por sua coloração mais clara, tem limites nítidos possuindo exclusivamente escamas odoríferas. As escamas de coloração que continuam nos seus limites não mostram particularidades, são pequenas e não oferecem proteção à área. A parte glandular do fêmur começa logo depois da articulação de coxa-fêmur extendendo-se sôbre dois terços do comprimento do segmento.

A coxa que é ligeiramente mais curta do que o fêmur e tem uma grande agilidade, é deitada no lado externo na sua extensão total em forma de sulcos. Esta área não possui escamas e é separada tanto em frente como atrás por listras nítidas. Na sua parte baixa ela torna-se mais estreita para a articulação de coxa-fêmur. O fêmur em repouso está deitado neste sulco de forma que a área odorífera fica entre as duas listras fechada para o lado externo. As escamas na listra anterior formam um aumento que aumenta ligeiramente o efeito protetor da coxa (KO). Quando em repouso surge o quadro da fig. 1 c.

A área odorífera possui exclusivamente escamas odoríferas colocadas densamente. Em cada 1 mm^2 da área existem aproximadamente 8 000 escamas, i. é uma célula glandular ocupa em média 125 $micra^2$ da área com uma largura apenas de 11 micra (fig. 2). As escamas odoríferas são muito pequenas tendo um comprimento de 20 micra e uma largura máxima de 10 a 12 micra. Elas possuem no seu lado superior 10 a 14 estrias fortes sem conetivas. A membrana entre as estrias não deixa reconhecer perforações de forma que deve ser suposto que a secreção difunde através da membrana quitinosa. A forma das escamas é virada para cima em forma de colher (fig. 1 d) aumentando-se assim a superfície evaporadora.

2. *Androcharta diversipennis* Wkr. (= *parvipennis* Btl).

O exemplar do macho presente desta espécie diferencia-se da descrição da espécie de Draudt (Seitz, A., 1936-38, Die Gross-Schmetterlinge der Erde, Band 6: Die amerikanischen Spinner und Schwaermer, pág. 131) pelo fato que as manchas dorsais de côr carmim aparecem não sòmente nos primeiros dois mas sim nos primeiros quatro segmentos abdominais. Esta observação corresponde à indicação de Draut que esta espécie varia grandemente. As células glandulares odoríferas formam na superfície da asa posterior uma grande área odorífera que chama a atenção devido a sua côr cinza-clara e o seu aspeto de veludo diferenciando-se do branco da asa posterior da fêmea (fig. 3). A asa posterior do macho sofreu uma modificação típica da sua área: A sua margem anterior e da ponta são viradas quase verticalmente para cima e o centro da área com o campo glandular é inclinado para baixo. A margem posterior levanta-se do seu abaixamento central uniformemente passando em parte para o lado inferior da asa. A margem anterior com um aumento estreito horizontal (W_1), o canto da margem da ponta (S) e o aumento da margem posterior (RH) estão colocados com a articulação da asa (GE) num plano do qual sai para baixo e em forma de bacia a parte central glandular da

área da asa a qual quando em repouso é ocupada pela asa anterior. A parte da asa anterior que fecha êste abaixamento para cima é tomada por escamas grandes e brancas as quais porém não têm nenhuma ligação com o órgão odorífero. A modificação da nervatura da asa posterior resulta da fig. 3 c. As nervuras fortemente viradas para o bordo posterior (Rs, M_1 e e M_{2-3}, Cu_{1a} e Cu_{1b}, An_1) proporcionam a lamela da asa que pela introdução de células glandulares vivas de um lado uma asa que pela introdução de células glandulares vivas é muito labil de um lado uma firmeza especial facilitando de outro lado o fornecimento do alimento necessário por meio do líquido da cavidade abdominal.

As partes da asa posterior sôbre as quais a asa anterior quando em repouso está deitado respectivamente sôbre as quais a asa anterior move-se durante a extensão da asa, não possuem escamas odoríferas mas sim escamas maiores e menores fixas com estrias fortes que devem ser consideradas escamas de movimento. As escamas de movimento da margem anterior diferenciam-se das escamas de coloração comuns sòmente por estrias mais fortes. Têm da mesma forma e pigmentação e pertencem ao "tipo de grades" com perforações regulares (fig. 3). As escamas correspondentes da margem posterior têm muita coisa em comum com as escamas odoríferas (fig. 3 e).

Na área odorífera da asa posterior encontram-se exclusivamente escamas odoríferas. Interessante é a arrumação em filas (fig. 4) o que indica que as escamas odoríferas nasceram de escamas de coloração normais. Não estão muito densas e não ocupando a lamela da asa por completo. Em cada 1 mm^2 existem quase 910 a 930 inserções (fig. 4). A forma das escamas odoríferas é longa e estendida ampliando-se do pedúnculo uniformemente até o centro daqui em diante muito pouco até a ponta (fig. 3 d). O corpo da escama tem sempre 2 fortes dobras longitudinais que da ponta paralelamente às margens percorrem dois terços do comprimento total (fig. $3d_1$). Elas são planas em direção à base, para a ponta elas crescem de altura. Como o dobramento é irregular, as estrias quando vistas de cima não correm paralelamente mas sim são inclinadas às dobras. É interessante que as formas das escamas odoríferas da área inteira são muito regulares e uniformes. Ao contrário às escamas odoríferas as escamas de movimento do bordo posterior (fig 3 e) da área odorífera têm estrutura irregular. Na parte posterior da área elas assemelham-se à forma das escamas odoríferas. Quanto mais perto ao bordo anterior da asa elas ficam tanto mais largas e curtas se tornam. Elas também possuem dobras longitudinais, porém estas são mais planas e mais uniformes de forma que as estrias não são deslocadas ou sòmente muito pouco da sua direção ótica longitudinal. Encontram-se perto da área odorífera áreas de movimento com duas dobras longitudinais que vão quase até ao pedúnculo. No bordo posterior da asa elas possuem porém 3 ou 4 dobras longitudinais das quais sempre só as externas correm até a base. Não raramente aparecem dobras curtas e incompletas.

3. *Cosmosoma auge.*

Esta descrição refere-se ao exemplar com o comprimento total de 14,1 mm. O tamanho da asa anterior é: comprimento do bordo anterior da articulação até ao fim de R_4: 17,8 mm. Comprimento do bordo externo do fim do R_4 até ao fim de An_2: 9,8 mm. Comprimento do bordo posterior da articulação até ao fim de An_2: 11,4 mm. O abdomen tem um comprimento, tomado por baixo, de 7,2 mm incluindo um tufo de cabelo no fim.

Como nas lepidópteros de forma mais desenvolvida o primeiro ventrito é totalmente reduzido. O segundo ventrito do macho desta espécie é grandemente aumentado formando uma placa que ocupa mais do que um terço do comprimento do abdomen. O terceiro ventrito não é visível de fora pois está deitado na cavidade do órgão odorífero. O quarto ventrito nos lados é comprido, na linha mediana muito estreito. A parte restante do abdomen tem formação normal (fig. 5).

Em baixo do segundo e do quarto ventrito modificado está um órgão complicado cuja estrutura consta de fig. 6: Ao fim da grande placa do segundo ventrito (V_2) segue uma membrana intersegmental esticada (I_2) formando no seu comêço uma dobra fina e hialina que visto de baixo pode ser reconhecida como bordo estreito (B) (preparado sem escamas). A placa é completada por uma listra de quitina aumentada (CL_2) na qual estão diversas filas de escamas de tamanho variado (730 a 850 micra). Estas, chamadas daqui em diante escamas de cobertura (D_2) são delgadas e fracas e uniformemente viradas com uma largura no centro de quase 30 a 35 micra (fig. 7 b). Em baixo destas escamas de cobertura estão várias filas (5 a 7) de escamas de outra formação (escamas marginais, SC). Elas são, ao contrário às escamas de cobertura escuras, sem pigmentos e hialinas (fig. 7 a). Enquanto as escamas de cobertura apresentam uma estrutura de tela muito fina, as escamas marginais possuem estrias fortes e relativamente poucas. A membrana entre as estrias apresenta sòmente perfurações mínimas e irregulares numa linha de cada vez. O seu lume (corte transversal em fig. 7 d) é muito grande e fixado pelas trabéculas. O seu comprimento com 550 a 650 micra é sensìvelmente menor que o das escamas de cobertura de forma que estão escondidas em baixo destas (largura no centro 30 micra, pouco antes da ponta 50 a 80 micra).

No fim da membrana intersegmental comprida do segundo ventrito inicia numa pequena dobra da quitina, que agora está engrossando, o músculo longitudinal principal (MU) que indica o comêço do terceiro ventrito. O início desta parte é glandular e tem cerdas agrupadas densamente e finas em forma de cabelo que como cerdas de fêltro serão ainda descritas mais abaixo. As cerdas de fêltro são os órgãos de encaminhamento da secreção das células glandulares.

Da profundidade desta dobra eleva-se o terceiro ventrito com uma cutícula muito fina até a altura da placa do segundo ventrito a onde forma como o segmento anterior uma listra quitinosa (CL_3). A parte membranosa anterior do terceiro ventrito tem uma superfície com es-

camas e verugas correspondendo à fig. 8 a. A listra quitinosa segue a membrana intersegmental (I_3) que começa com uma dobra fina e hialina e cuja margem está tomada por uma série de pequenos dentes quitinosos (fig. 6 Z e fig. 8 B). A membrana intersegmental do terceiro ventrito forma mais um aprofundamento no corpo. No seu fim encontra-se a mesma formação como no aprofundamento anterior com a inserção do músculo longitudinal principal ventral.

Neste ponto começa o quarto ventrito com uma área glandular também com cerdas de fêltro. Segue uma parte quitinosa e membranosa alargando-se para trás em forma de saco. A cutícula é fortemente verugosa (fig. 9). Esta cavidade está cheia de cerdas de fêltro e é fechada em cima por uma placa fortemente quitinisada a qual visto por baixo na fig. 6 está marcada com IV e corresponde ao quarto ventrito. No espaço entre as duas placas glandulares (DP_1 e DP_2) e a fôlha parietal do corpo gorduroso encontram-se grandes sacos de traquéias (ST) os quais enviam prolongamentos à placa do segundo ventrito como também à parte do terceiro ventrito (ST_1).

Função: Em repouso o órgão é fechado de tal forma que as partes V_4, CL_3 e CL_2 estão juntas formando um fechamento relativamente denso de ambas as cavidades. Sôbre as aberturas deitam-se as filas das escamas de cobertura e das escamas marginais as quais estão cobertas pelas escamas de cobertura. Com isto a margem hialina do segundo ventrito deita-se contra a listra quitinosa (CL_3) do terceiro ventrito e a margem do terceiro ventrito contra o canto do quarto ventrito (V_4). Êste movimento de fechamento é possibilitado pelos músculos longitudinais principais ventrais (MU). Nesta situação o fêltro de cabelo enche-se de secreção das placas glandulares.

Na função o órgão é aberto: O movimento procede-se pela contração dos músculos longitudinais principais dorsais que viram o abdomen para cima provocando com isto uma dilatação dos limites ventrais do segmento. Esta dilatação é aumentada pelo enchimento dos sacos de traquéias com ar sendo assim levantadas as partes abaixadas da membrana intersegmental do segundo e terceiro ventrito com as placas glandulares e o fêltro cabeludo. Ao mesmo tempo estas últimas são esticadas pelos prolongamentos dos sacos aéreos para dentro da membrana intersegmental (TS_1). Se assim é conseguida uma pressão sôbre o fêltro cabeludo, não se pode concluir, é porém de supor. Neste estado as duas entradas dos desdobramentos abriram-se e a secreção pode evaporar do fêltro cabeludo. Êste último mecanismo é aumentado pelas escamas marginais que encheram-se de secreção aparentemente já pela fenda da abertura quando em repouso.

As escamas marginais estão sempre grudadas entre si mesmo em material já antigo e sêco. Depois de dois dias formam-se já em baixo da lamínula em seu redor cirstais amorfas e em forma de alfinetes que esquentados derretem formando-se porém de novo com um resfriamento. No derretamento pode-se observar que o líquido é absorvido imediatamente pelas escamas e por cerdas de fêltro casualmente existentes. Os mesmos cristais formam-se em redor da cutícula glandular no pre-

parado sêco em baixo da lamínula. As estrias das escamas marginais estão afastadas entre si correspondendo à uma largura de 100 micra apenas 68 estrias. É significante para elas que não vão até as margens da escama de forma que a escama é bordada por uma margem hialina.

Cerdas de fêltro: A cutícula glandular é tomada por compridas cerdas finas e aparentemente brancas. O seu comprimento varia entre 1 650 e 1 800 micra, a sua largura no pedúnculo entre 3 e 3,5 micra, no centro entre 5,5 e 6,5 micra, 100 micra antes da ponta em diante a largura é 10 micra. A ponta própria forma um aumento com um comprimento de 9 a 11 micra e 6,5 a 7 micra de largura. O plano de inserção (fig. 10) mostra que em cada 1 mm^2 estão quase 60 000 cerdas. A superfície das cerdas deixa reconhecer no microscópio com luz transparente uma estrutura esponjosa de trabéculas de reforcamento que não mais podem ser chamadas estrias.

A estrutura mais fina não pode ser esclarecida com o microscópio de luz transparente com segurança suficiente. Por esta razão foram executadas observações e fotografias com o microscópio electrônico por H. Muth neste instituto. O objeto presta-se bem para êstes trabalhos pois na cerda não encontram-se pigmentos nem pigmentos da quitina em maior quantidade. Dos retratos (fig. 11 a 14) deixa-se reconhecer que a cerda consta de uma estrutura de rêde fôfa e irregular atravessada por finos ramos quitinosos. Das trabéculas de estrutura está sòmente uma parte na capa do cilindro da cerda entrando a outra parte para dentro da cavidade ligando entre si as citadas trabéculas de estrutura. É de supor que as primeiras partes correspondem às estrias, as últimas às conetivas. O corte transversal das trabéculas forma um triângulo regular cujo ângulo ímpar forma o canto superior da trabécula. A altura das trabéculas é de 0,4 micron, a largura de 0,2 micron. Os ramos finos quitinosos do interior devem corresponder às trabéculas das escamas normais. O seu diâmetro varia entre 0,05 e 0,025 micron. Na ponta as trabéculas de estrutura não juntam-se mais mas deixam uma abertura (fig. 13 e 14). Com o microscópio de luz transparente não conseguiu-se determinar que existe uma membrana no meio da estrutura. As fotografias do microscópio electrônico não mostram nenhuma sombra nas perfurações de forma que deve-se supor com certeza que as cerdas não tenham membranas. A cerda representa um aparêlho com efeito capilar extraordinário. O grande número de cerdas desta formação que juntam-se para fêltros cabeludos, devem ser consideradas como um aparêlho de sucção altamente especializado com relativamente grande capacidade.

Observações histológicas das placas glandulares: A hipoderme das placas glandulares (fig. 15) consta de células glandulares finas e compridas com limites celulares nìtidamente marcados. O comprimento das células é de quase 30 a 35 micra, a largura de 7 a 10 micra. O núcleo relativamente grande com uma largura de 5 a 7 micra e um comprimento de 8 a 9 micra está na maioria dos casos na parte basal podendo ser também deslocado freqüentemente pelo grande número dos núcleos na base para o centro ou até para a parte apical. A cromatina do nú-

cleo e fóra e tem, após da fixação segundo Carnoy, grânulos finos e possui 1 a 3 pequenos nucleolos nitidamente marcados e uma fina estrutura fibrilosa. O plasma da célula cerosa é quadro típico de célula glandular com estrutura vacuolosa regular que mostra-se mais ou menos nítida conforme ao seu estado funcional. Interessante é o ajuntamento de plastosomos que encontram-se logo em cima da membrana basal em forma de grânulas ovais muito pequenas (0,5 a 1 micron), sòmente encontrado com coloração com hematoxilina ferrica. O pólo apical não sobresai como na maioria das glândulas odoríferas descritas por meio de uma distribuição especializada do plasma. Após fixação mais prolongada (2 a 3 dias) segundo Carnoy pode-se demonstrar aqui uma estrutura fibrilosa não bem visível e provocada pela extração de substâncias plasmáticas pelo álcool do fixador.

Entre as partes superiores das células glandulares encontram-se numerosos núcleos celulares menores e degenerados que devem ser classificados como núcleos das células tormogêneas ou células de anel basal. O final da placa glandular é formada pela cutícula com as cerdas de fêltro com uma grossura de quase 6 a 8 micra. Ela é perfurada pelos numerosos canais de inserção das cerdas. No meio encontram-se verticalmente na cutícula espinhos quitinosos com um comprimento de 3 a 5 micra. A inserção das cerdas é simples. Na parte apical do canal encontra-se um aumento em forma de anel (R) no qual fixa-se a membrana da inserção da cerda. A última começa com um pedúnculo fino não especializado alargando-se ao deixar a cutícula regularmente até a largura definitiva.

Em baixo da hipoderme glandular seguem os sacos aéreos com fios espirais fortes e bem espalhadas. Na fig. 6 encontram-se 2 de tais sacos (veja seta A). Enquanto a hipoderme dos sacos aéreos degenera em geral, ela tem uma formação evoluída em baixo das placas glandulares constando de células grandes e ricas de plasma com nítidos limites celulares e grandes núcleos celulares. Êsses últimos possuem 1 a 2 nucléolos grandes e cromatina de grânulos grossos que pode ser colorida mais forte com hematoxilina do que a nas células glandulares. O plasma destas células quase não difere do das células glandulares. Plastosomos não podem ser encontrados. Entre as duas hipodermes ativas podem ser demonstradas as membranas basais finas entre as quais existem espaços maiores e menores cheios de líquido da cavidade abdominal (fixação segundo Bouin).

A função destas células não está clara, elas não possuem ligação direta à cutícula da placa glandular. Apesar que elas têm um caráter de células glandulares, não podem ser consideradas como tais. Talvez elas estão em ligação indireta com as células glandulares servindo à estas células pobres de plasma como células de alimentação de forma que preparam os alimentos para a formação das secreções as quais depois são preparadas e expelidas definitivamente pelas células da placa glandular. Assim encontrar-se-ia uma hipótese paralela às glândulas odoríferas das *Danaidae* descritas por Mueller (1879), Illig (1902) e Eltringham (1913 e 1915) onde se encontram na nervura vizinha au-

mentada células não glandulares mas sim bem aumentadas chamadas pelos autores em parte glandulares. Outras observações próprias em Danidae demonstram que a placa glandular da glândula da asa somente pode ser alimentada pela nervura Cu_1, pois a membrana da asa em redor da bólsa da glândula odorífera tem uma formação normal, i. é que as duas lamelas estão juntas uma em cima da outra fixadas por trabéculas nesta posição. Somente entre a bólsa e a parte aumentada da nervura existe uma ligação aberta em forma de canal à hipoderme da bólsa. Na parte da nervura virada à bólsa encontra-se uma camada de células hipodermais fortemente aumentadas. Na nervura encontra-se além de ramos de nervos e da traquéia somente bastante líquido da cavidade abdominal. A hipoderme, principalmente na entrada ao canal, é separada da cutícula. O espaço que se forma está preenchido com uma secreção de aparência fibrilosa que pode ser fixada com OsO_4 e a qual também se encontra no espaço secundário e nos outros espaços na membrana basal. As células da nervura não têm aparelhos de emissão como descritos por Illig. As cerdas odoríferas descritas por êste último autor correspondem às cerdas sensíveis encontradas em tôdas as nervuras que eventualmente devem ser consideradas receptores dos estímulos pelo movimento do ar.

A questão das células de alimentação deve ficar reservada para observações posteriores. Deve-se chamar apenas a atenção ao fato que também no Erebus odoratus foram encontradas células semelhantes a glândula odorífera da tíbia posterior por Barth (1952) que admitem uma função idêntica.

C. Resumo.

1. Os aparelhos odoríferos dos machos das seguintes *Syntomidae (= Ctenuchidae)* são descritas: *Androcharta diversipennis, Cosmosoma ignidorsia* e *C. auge.*

2. Nas duas primeiras espécies realiza-se a copulação durante o dia enquanto o aparélho odorífero sexual dos machos é pequeno e pouco desenvolvido.

3. Em *Cosmosoma auge* realiza-se a copulação durante a noite enquanto o aparélho odorífero sexual tem uma evolução alta e é relativamente bem grande.

4. *Cosmosoma ignidorsia* possui uma área de escamas odoríferas no fémur anterior. Como aparélho protetor serve um ligeiro sulco sem escamas na coxa anterior. As escamas odoríferas estão colocadas irregularmente.

5. *Andocharta diversipennis* tem uma área de escamas odoríferas na superfície da asa posterior. Como aparélho protetor serve a asa anterior. As escamas odoríferas estão agrupadas em filas.

6. a) O órgão odorífero de *Cosmosoma auge* consta de duas placas glandulares abaixadas no terceiro e quarto ventrito protegidas por aumentos do segundo e terceiro ventrito.

b) Os espaços em baixo dêstes aumentos são preenchidos por um fêltro cabeludo formado pelas cerdas das placas glandulares.

c) Os complexos glandulares podem ser abertos e fechados por movimento muscular. Por um sistema de sacos aéreos o mecanismo de abertura é reforçado.

d) Sôbre a abertura deitam-se quando em repouso escamas com área grande que favorecem à evaporação da secreção e ainda escamas de cobertura compridas e finas.

e) Observações com o microscópio electrônico demonstraram a falta de uma membrana entre as trabéculas das cerdas do fêltro cabeludo altamente especializadas.

f) A hipoderme das glândulas possui células glandulares pequenas com plastósomas. As partes situadas em baixo das placas glandulares dos sacos aéreos têm células fortemente aumentadas. Admite-se que estas células servem como células de alimentação na preparação da secreção. São lembradas observações paralelas na glândula da asa de Danaidae e nas glândulas das pernas de Erebus odoratus a onde células aumentadas na vizinhança das células glandulares exercem aparentemente um papel no preparo da secreção.

D. Literatura.

BARTH, R., 1952, Das maennliche Duftorgan von *Erebus odoratus* L (*Lepidoptera, Noctuidae*), Zool. Jb. Anat. 72: 289-301, 10 figs.

BARTH, R., 1953, Allgemeine Betrachtungen ueber die maennlichen Sexualduftorgane der Lepidopteren (1.-4. Regel). Memórias do Instit. Osw. Cruz. 51.

ELTRINGHAM, H., 1913, On the scent apparatus in the male of *Amauris niavius* L. Trans. Ent. Soc. London 1913: 399-406, 1 est.

ELTRINGHAM, H., 1915, Further observations on the structure of the scent organs in certain danaine butterflies. Trans. Ent. Soc. London 1915: 152-176, ests. 11-20.

ILLIG, K. G. 1902, Duftorgane der maennlichen Schmetterlinge. Zoologica Vol. 38: 1-34, estas. 1-5.

MUELLER, F., 1879, As máculas sexuais dos indivíduos masculinos das espécies *Danais erippus* e *Danais gilippus*. Arch. do museu nac. Rio de Janeiro, Vol. II.

E. Abreviações nas figuras.

An_1 primeira nervura anal
B bordo do segundo ventrito
BO cerdas
CL_2, CL_3 listras quitinosas do segundo e terceiro ventrito
CO coxa
CU cutícula
Cu_{1a}, CU_{1b} ramos da nervura cubital
D_2 escamas de cobertura

DF área das escamas odoríferas
DK núcleos das células glandulares
DO espinhos
DP_1, DP_2 primeira e segunda placa glandular
F dobra
FE fêmur
FES fios espirais das traquéias
GE articulação
HD hipoderme glandular
I_2, I_3 segunda e terceira membrana intersegmental
KO escamas de estrutura
KT núcleos das células de anel basal
M_{1-3} primeiro a terceiro ramo da nervura medial
MU músculo
MUB músculo da base do abdomen
O lado superior
q nervura transversal
R sulco da coxa
R_1 nervura radial
RH bordo posterior da asa
RI anel basal
Rs sector radii
S bordo anterior da asa
Sc nervura subcostal
SC escamas de evaporação
SP espaço intermediário
T tíbia
TK núcleos da hipoderme traqueial
TR célula tormogênea
TS sacos aéreos
TS_1 aumentos dos sacos aéreos
TW parede da traquéia
V_1 aumento da asa posterior
V_2 segundo ventrito
V_4 bordo anterior do quarto ventrito
VF asa anterior
Z cone quitinoso
II-VIII segundo a oitavo segmento abdominal

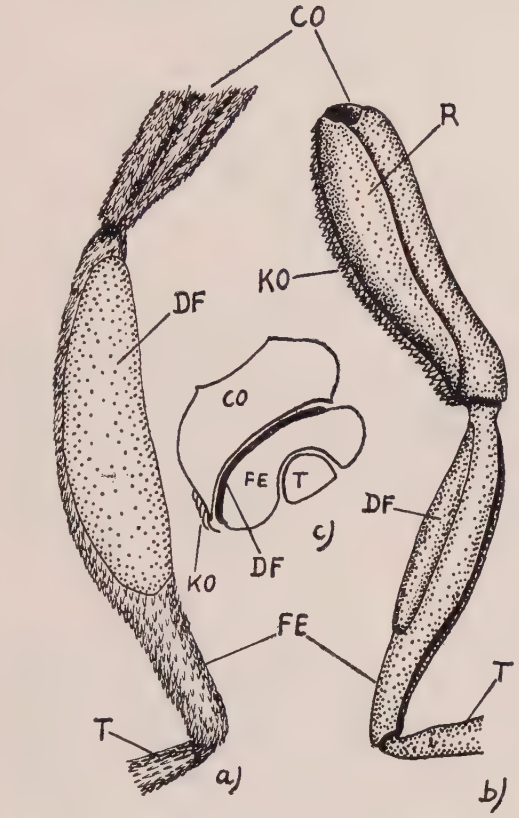
Fig. 1. *Cosmosoma ignidorsia*. a) Perna anterior lado interior, b) lado exterior, sem escamas além das escamas marginais do sulco da coxa, c) corte transversal esquemático pela mesma perna em repouso, d) escamas odoríferas vistas de lado, e) idem, vistas de cima.

Abb 1. *Cosmosoma ignidorsia*. a) Vorderbein von innen, b) von aussen, entschuppet bis auf die Randschuppen der Rinne der Coxa, c) schematischer Querschnitt durch das Bein in Ruhestellung, d) Duftschuppen von der Seite, e) dsgl. in Aufsicht.

Fig. 2. *Cosmosoma ignidorsia*. Esquema de inserção da área odorífera (14 641 micra^2 com 103 inserções).

Abb. 2. *Cosmosoma ignidorsia*. Insertionsplan des Duftfeldes (14 641 micra^2 mit 103 Insertionen).

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



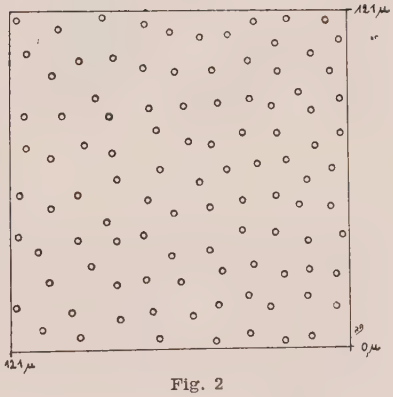


Fig. 2

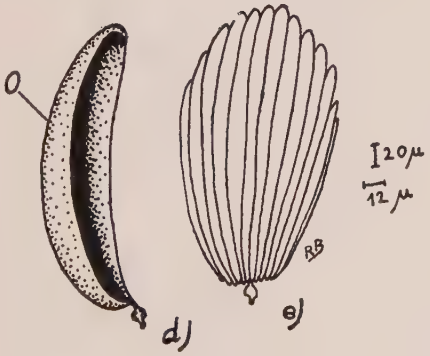


Fig. 1

Fig. 3. *Androcharta diversipennis*. a) corte transversal esquemático em direção da seta A da fig. 3 c), b) corte longitudinal esquemático pela asa posterior em direção da seta B da fig. 3 c), c) asa posterior vista de cima; pontilhada = área odorifera, tracejada = área das escamas de movimento, branco = parte marrom-escura da asa, d) escama odorífera vista de cima, comprimento 130 micra, d_1) escama odorífera no corte transversal esquemático, e) escamas de movimento da última parte do bordo posterior da asa, comprimento 63 micra, f) escama de movimento do bordo anterior, comprimento 142 micra. Fig. d), e) e f) do mesmo aumento.

Abb. 3. *Androcharta diversipennis*. a) schematischer Querschnitt in Richtung des Pfeiles A in Abb. 3 c), b) schematischer Laengsschnitt durch den Hinterfluegel in Richtung des Pleiles B in Abb. 3 c), c) Hinterfluegel von oben; punktiert = Duftfeld, gestrichelt = Gebiet der Gleitschuppen, weiss = braun-schwarzer Teil des Fluegels, d) Duftschuppe in Aufsicht, Laenge 130 micra, d_1) Duftschuppe im schematischen Querschnitt, e) Gleitschuppe des aeussersten Hinterrandes des Fluegels, Laenge 63 micra, f) Gleitschuppe des Vorderrandes, Laenge 142 micra. Abb. d), e) und f) mit dergleichen Vergroesserng.

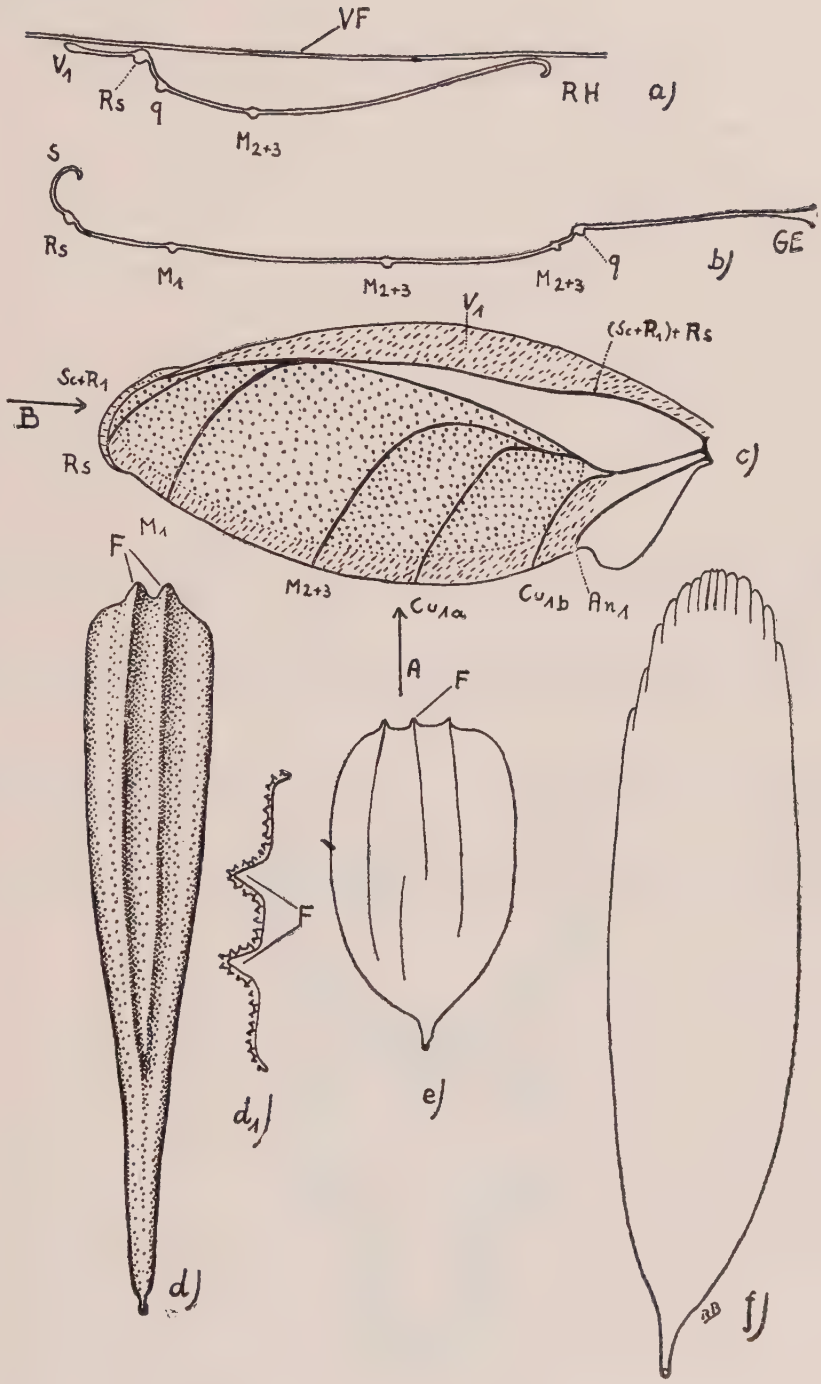

VF
V1
Rs
q
RH
a)
M2+3
S
Rs
M1
M2+3
q
b)
GE
V1
(Sc+R1)+Rs
Sc+R1
B
Rs
c)
F
M1
M2+3
Cu1a
Cu1b
An1
A
F
d1)
e)
d)
ab
f)

Fig. 3

Fig. 4. *Androcarta diversipennis*. Esquema de inserção da área odorífera (63 220 micra² com 59 inserções).

Fig. 5. *C. auge*. Abdomen visto de baixo, sem escamas além das escamas do tufo final. Prêto = entrada do órgão odorífero.

Abb. 4. *Androcharta diversipennis*. Insertionsplan des Duftschuppenfeldes (63 220 micra² mit 59 Insertionen).

Abb. 5. *C. auge*. Hinterleib von unten gesehen, entschuppt bis auf die Afterschuppen. Schwarz = Eingang zum Duftorgan

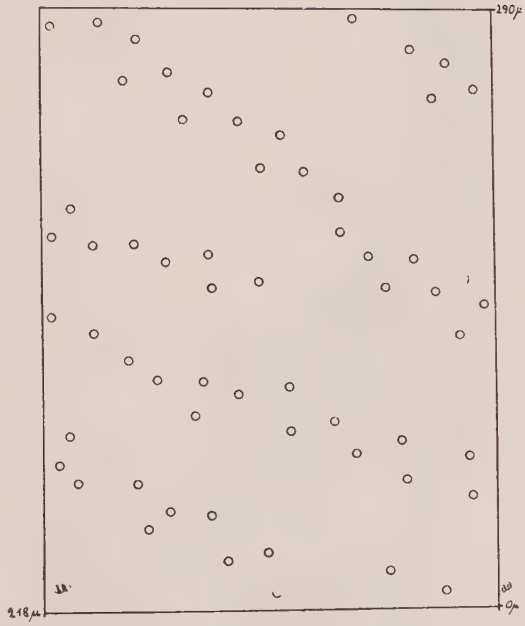


Fig. 4

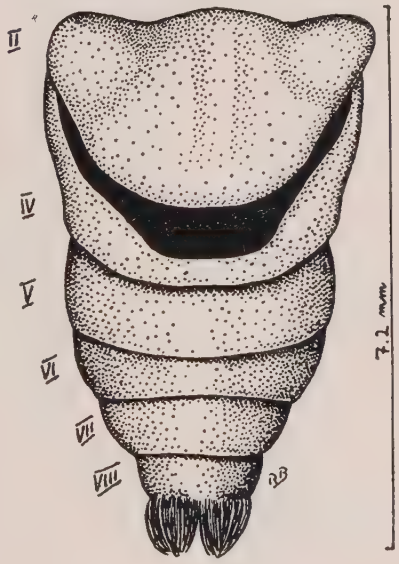


Fig. 5

Fig. 6. C. auge. Corte sagital pela base do abdomen.

Abb. 6. *C. auge*. Sagitalschnitt durch die Basis des Abdomens.

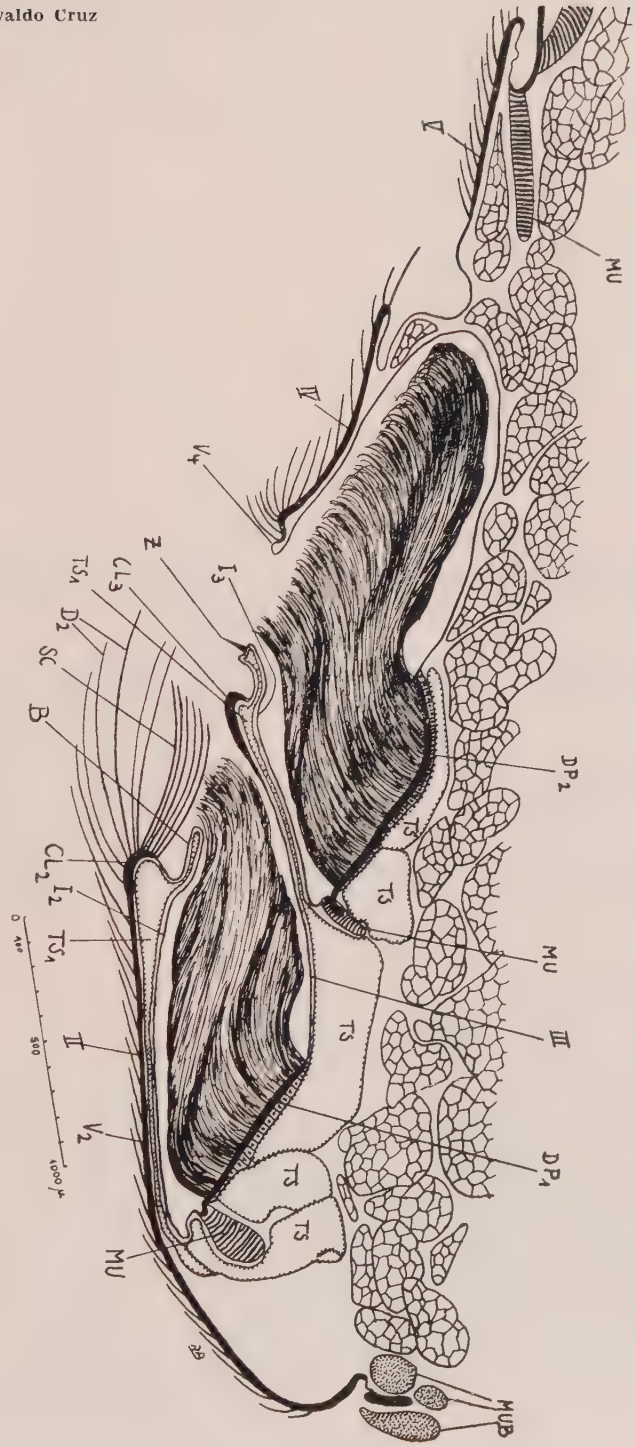


Fig. 6

Fig. 7. *C. auge*. a) escama marginal, b) escama de cobertura, c) parte da superfície da escama marginal, d) corte transversal pela escama marginal.

Fig. 8. *C. auge*. a) quitina com estrutura em forma de escamas do terceiro ventrito, vista de cima, b) espinha do bordo posterior do terceiro ventrito.

Abb. 7. *C. auge*. a) Saumschuppe, b) Deckschuppe, c) Teil der Oberflaeche der Saumschuppe, d) Querschnitt durch die Saumschuppe.

Abb. 8. *C. auge*. a) schuppenfoermig skulpturiertes Chitin aus dem 3. Ventrit, Aufblick, b) Dorn vom Endrand des 3. Ventrits.

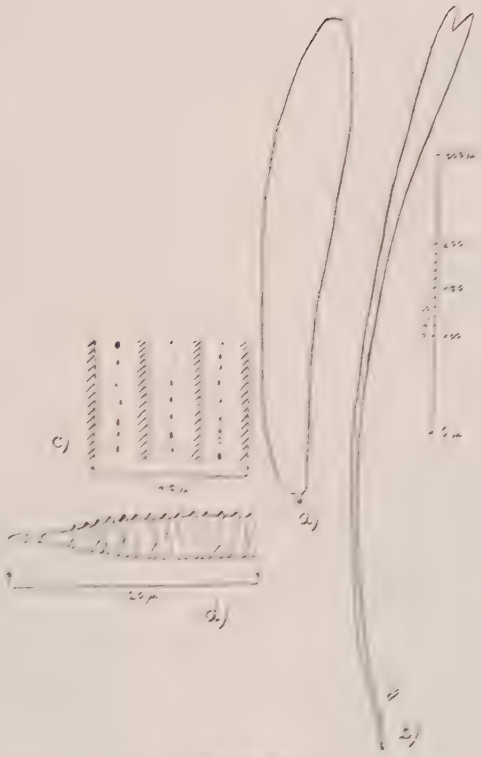


Fig. 2a-e

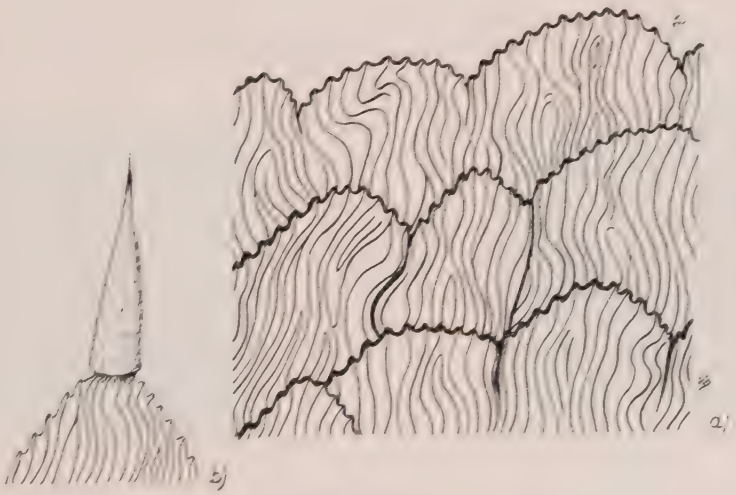


Fig. 2a-e

Fig. 9. *C. auge*. Cutícula do aumento em forma de saco do quarto ventrito, vista de cima.

Fig. 10. *C. auge*. Esquema de inserção das placas glandulares (1 824 micra² com 92 inserções).

Fig. 11. *C. auge*. Cerdas do fêltro cabeludo. Fotografias pelo microscópio electrônico (H. Muth). Fig. 11. parte mediana da cerda, aumento 2 300 vêzes, Fig. 12. idem, aumento 7 500 vêzes, Fig. 13. Ponta da cerda, aumento 3 500 vêzes, Fig. 14. idem, aumento 7 500 vêzes.

Abb. 9. *C. auge*. Aufblick auf die Cuticula der sackfoermigen Erweiterung des 4. Ventrits.

Abb. 10. *C. auge*. Insertionsplan der Druesenplatten (1 824 micra² mit 92 Insertionen).

Abb. 11. bis 14. *C. auge*. Borsten des Haarfilzes. Aufnahmen mit EM (H. Muth). Abb. 11. Mittelteil der Borste, Vergr. 2 300 fach, Abb. 12. dsgl. Vergr. 7 500 fach, Abb. 13. Spitze der Borste, Vergr. 3 500 fach, Abb. 14. dsgl. Vergr. 7 500 fach.

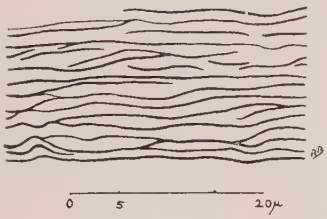


Fig. 9

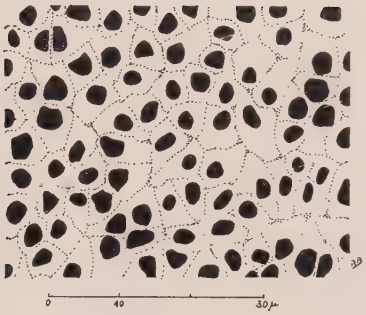


Fig. 10

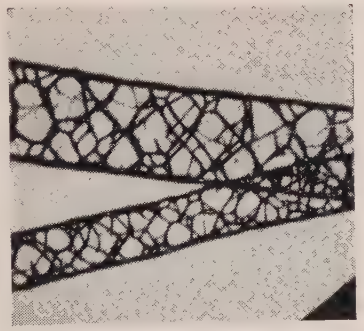


Fig. 11

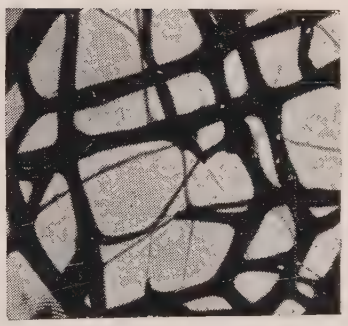


Fig. 12

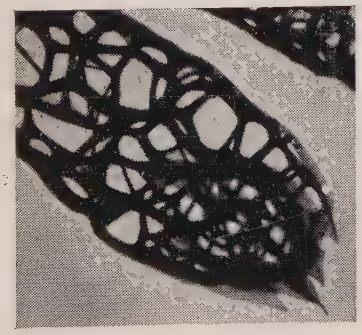


Fig. 13

Fig. 14

Fig. 15. *C. auge*. Parte da placa glandular do quarto ventrito.

Abb. 15. *C. auge*, Ausschnitt aus der Druesenplatte des 4. Ventrits.

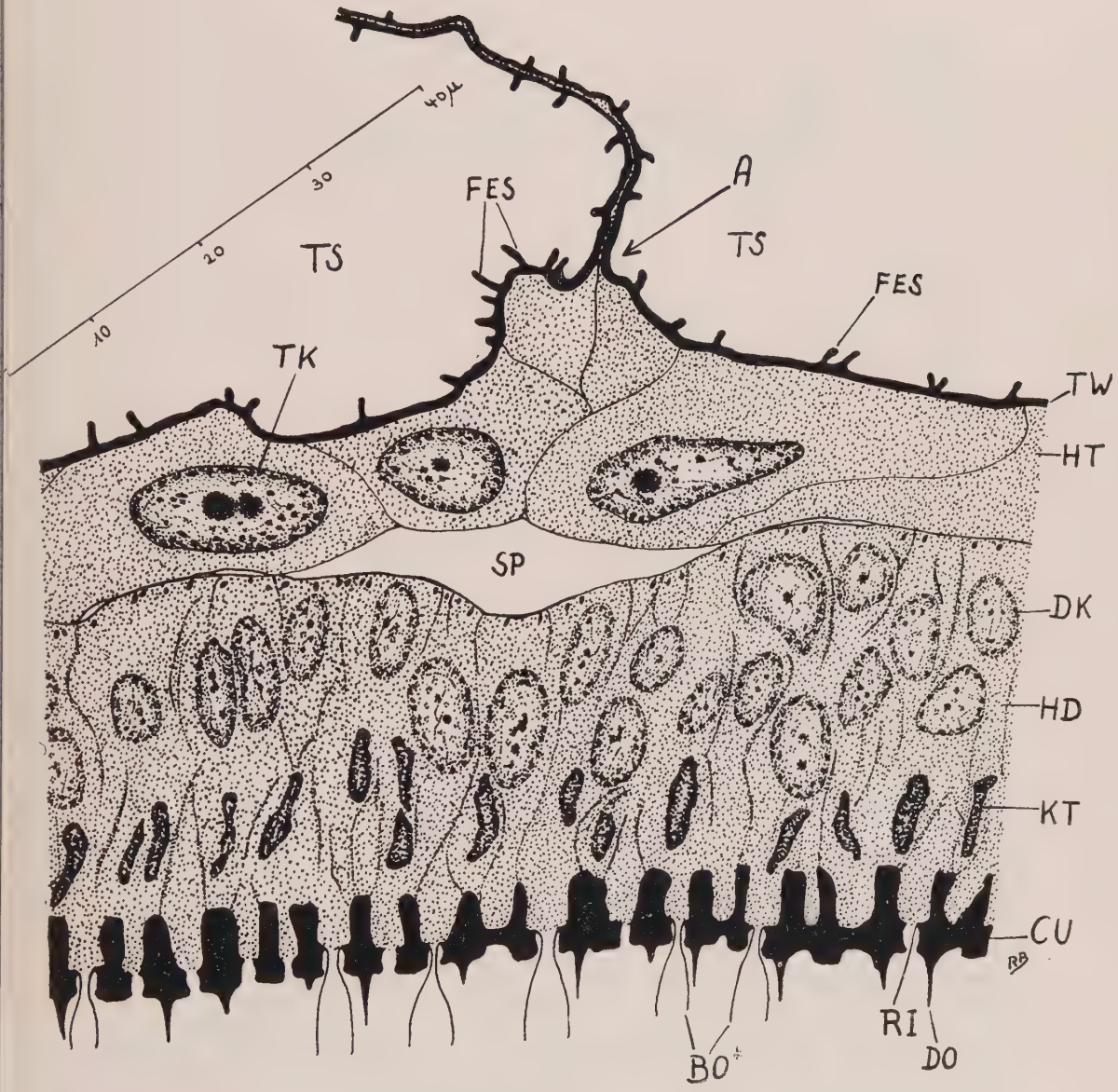


Fig. 15

Maennliche Duftorgane einiger brasilianischer Syntomidae (= Ctenuchidae).

von

Rudolf Barth

(mit 15 Abbildungen)

A. Allgemeine Bemerkungen
B. Beschreibung der Duftorgane
1. Cosmosoma ignidorsia
2. Androcharta diversipennis
3. Cosmosoma auge
C. Zusammenfassung
D. Literatur
E. Abkuerzungen in den Abbildungen

A. Allgemeine Bemerkungen.

Von den *Syntomidae* des Distrito Federal ist *Cosmosoma auge* eine der haeufigsten Arten. Man findet sie neben anderen Familiengenossen nach einem Regenschauer im schaerfsten Sonnenschein in windstillen Winkeln von bebuschten Wiesen ihrer Nahrung auf Kompositen und Umbelliferen nachgehen oder kann die Weibchen bei der Eiablage beobachten. Es fand sich beim Maennchen von *C. auge* an der Abdomenbasis ein grosses zusammengesetztes Duftorgan auf einer hohen Entwicklungsstufe. Das Organ ist in der Ruhestellung vollstaendig unter dem 2. Ventrit verborgen. Hinweise auf die Vergroesserung des 2. Ventrits gibt Draudt in Seitz (1936-38) in der Familienuebersicht auf S. 37: "Die ersten Hinterleibsringe tragen bei den Maennchen vieler Gattungen ventral eine grosse Klappe, die bei manchen Arten fast das Hinterleibsende erreicht". In der Beschreibung der Art heisst es auf S. 72: "Die grosse Bauchklappe beim Maennchen seitlich silberweiss". Es konnte beobachtet werden, dass haeufig auch der Hinterrand der "Klappe" weiss erscheint, hervorgerufen durch einen Teil des weissen Haarfilzes, der das Innere der Klappe ausfuellt.

Das Auftreten eines hochentwickelten Duftorgans bei taglebenden Schmetterlingen erscheint als Ausnahme der Regel, die Barth (1953), aufstellte, wonach solche Organe fast ausnahmslos bei Nachtschmetter-

lingen gefunden werden. Obwohl die *Syntomidae* zu der zumeist nachtlebenden *Heterocera*-Gruppe gehoeren, fuehren sie eine mehr oder weniger Sonnenschein liebende Lebensweise und zeigen hierin eine Verbindung zu den nahestehenden *Zygaenidae*.

Im Gegensatz zu dem Organ von *C. auge* besitzt *C. ignidorsia* ein ueberaus einfach organisiertes und kleines Duftorgan. Es besteht aus einer Konzentration von Duftschuppen auf einen Teil des vorderen Femurs und besitzt keinen Hilfsapparat, sondern kann in der Ruhe lediglich in einer Aushoehlung der Coxa verborgen werden. Ebenfalls besitzt *Androcharta diversipennis* ein einfaches Duftogan, das aus einem grossen Duftfeld auf der Oberseite des Hinterfluegels besteht und als Schutzeinrichtung lediglich auf den Vorderfluegel angewiesen ist, unter dem sich der kleine Hinterfluegel vollstaendig verbergen kann.

Der Vergleich dieser drei Arten fuehrt zu der Vermutung, dass biologische Unterschiede in Bezug auf die Einleitung der Kopulation bestehen. Nach zahlreichen, sich ueber ein Jahr erstreckenden Beobachtungen, die zu verschiedenen Tagesstunden und an unterschiedlichen Oertlichkeiten in der Umgebung von Rio de Janeiro angestellt wurden, ergab sich: von *C. auge* wurde keine Kopulation oder ein Versuch hierzu beobachtet, Maennchen und Weibchen kuemmern sich nicht umeinander, auch wenn sie auf demselben Bluetenstand angetroffen wurden. Dagegen wurden kopulierende Paerchen von *C. ignidorsia* mehrfach gefunden. Die Maennchen der letzteren Art fliegen lebhafter als die von *C. auge,* und einige Male konnte beobachtet werden, wie das Maennchen in Gegenwart vom Weibchen unruhig wurde und mit ruckartigen Fluegelbewegungen sich letzterem naeherte. Das Weibchen erhob sich zum Flug und nach einigen Suchbewegungen flog auch das Maennchen ab. Bemerkenswert ist die Beobachtung, das Maennchen von *Cosmosoma auge* mehrmals am Licht des nachts gefangen wurden und sich morgens haeufig unter Beleuchtungsanlagen finden. Biologische Beobachtungen an *Androcharta diversipennis* konnten nicht angestellt werden. Es kann lediglich ergaenzt werden, dass die Falter nur am Tage beobachtet und gefangen wurden, so dass zu vermuten is, dass diese Art in der Lebensweise *Cosmosoma ignidorsia* nahe kommt.

Aus allem muss geschlossen werden, dass sich das Leben von *C. ignidorsia* und *A. diversipennis* in allen Teilen vornehmlich am Tage abspielt, dass dagegen *C. auge* tagsueber bei bestimmten Witterungszustaenden zur Nahrungssuche und Eiablage rege ist, dass aber das Aufsuchen des Geschlechtspartners und die Kopulation waehrend der Nachtstunden erfolgen. Dem entspricht der morphologische Befund, dass *A. diversipennis* und *C. ignidorsia* kleine, *C. auge* aber grosse Duftapparate besitzen.

B. Beschreibung der Duftorgane.

1. *Cosmosoma ignidorsia.*

Das Duftorgan besteht aus einem Duftschuppenfeld auf der Innen- und Vorderseite des vorderen Femurs (Abb. 1). Im Vergleich zum

Weibchen ist beim Maennchen der Durchmesser des Femurs an dieser Stelle etwas groesser. Sonstige morphologische Aenderungen hat der Femur nicht erlitten. Das Duftschuppenfeld (DF), das durch eine hellere Faerbung auffaellt, ist scharf begrenzt und besitzt ausschiesslich Duftschuppen. Die an seinen Grenzen anschliessenden Konturschuppen zeigen keine Sonderheiten, sind sehr klein und geben dem Feld keinen Schutz. Der druesige Teil des Femurs beginnt kurz hinter dem Coxa-Femur-Gelenk und erstreckt sich ueber 2/3 der Laenge des Gliedes.

Die Coxa, die nur um ein Weniges kuerzer als der Femur ist und eine grosse Beweglichkeit besitzt, ist auf der Aussenseite in ihrer ganzen Laenge rinnenartig eingesenkt. Diese Flaeche traegt keine Schuppen und wird vorne und hinten durch scharfe Leisten abgegrenzt. In ihrem unteren Teil verschmaelert sie sich zum Coxa-Femur-Gelenk hin. Der Femur liegt in der Ruhelage in der Weise in dieser Rinne, dass das Duftfeld zwischen den beiden Leisten liegt und nach aussen abgeschlossen ist. Die Schuppen auf der vorderen Leiste bilden eine Vergroesserung, die die Schutzwirkung der Coxa ein wenig erhoeht (KO). In der Ruhelage ergibt sich das Bild der Abb. 1 c.

Das Duftfeld besitzt ausschliesslich Duftschuppen, die sehr dicht stehen. Auf 1 mm^2 der Flaeche entfallen etwa 8 000 Schuppen, d.h. eine Druesenzelle nimmt im Durchschnitt 125 $micra^2$ Flaeche ein und hat dami eine Breite von nur 11 micra (Abb. 2) Die Duftschuppen sind sehr klein, haben eine Laenge von 20 micra und eine groesste Breite von 10 bis 12 micra. Sie besitzen auf ihrer Oberseite 10 — 14 starke Laengsrippen ohne Konnektive. Die Membran zwischen den Rippen laesst keine Durchbrueche erkennen, so dass angenommen werden muss, dass das Sekret durch die chitinoese Membran diffundiert. Die Form der Schuppen ist loeffelartig nach oben gewoelbt (Abb. 1 d), wodurch die verdunstende Oberflaeche vergroessert wird.

2. *Androcharta diversipennis* Wkr. (= *parvipennis* Btl.).

Das zur Bearbeitung vorliegende Maennchen dieser Art unterscheidet sich von der Artbeschreibung Draudts (Seitz, A., 1936-1938, Die Gross-Schmetterlinge der Erde, Band 6: Die amerikanischen Spinner und Schwaermer, S. 131) dadurch, das die "carminroten Rueckenflecke" nicht nur auf den ersten beiden, sondern auf den ersten 4 Abdominalsegmenten auftreten. Diese Beobachtung entspricht der Bemerkung Draudts, das diese Art betraechtlich variiert.

Die Duftdruesenzellen bilden auf der Oberseite des Hinterfluegels ein grosses Duftfeld, das durch seine seine weissgraue Faerbung und die samtartige Beschaffenheit auffaellt und sich von der weissen Faerbung des weiblichen Hinterfluegels stark unterscheidet (Abb. 3) Der maennliche Hinterfluegel hat eine beachtliche Umgestaltung seiner Flaeche erfahren: Sein Voder-und Spitzenrand sind annaehernd senkrecht nach oben gebogen und das Zentrum der Flaeche mit dem Druesenfeld ist nach unten gewoelbt. Der Hinterrand erhebt sich aus der zentralen Einsenkung gleichmaessig und biegt teilweise zur Unterseite

hinueber (R). Der Vorderrand mit einer schmalen horizontalen Erweiterung (V_1), die Kante des Spitzenrandes (S) und die Woelbung des Hinterrandes (RH) liegen mit dem Fluegelgelenk (GE) in einer Ebene, aus der sich nach unten wannenfoermig der zentrale druesige Teil der Fluegelflaeche woelbt und die in der Ruhelage vom Vorderfluegel eingenommen wird. Der die Einsenkung nach oben abdeckende Teil des Vorderfluegels ist mit grossen weissen Schuppen besetzt, die jedoch in keinem direkten Zusammenhang mit dem Duftorgan stehen. Die Modifikation des Geaeders des Hinterfluegels geht aus der Abb. 3 c hervor. Die stark zum Hinterrand gebogenen Adern (Rs, M_1 und $M_{(2-3)}$, Cu_{1a} und Cu_{1b}, An_1) geben der durch die Einlagerung lebender Druesenzellen labilen Fluegellamelle einerseits einen besonderen Halt, andererseits ermoeglichen sie die Zufuhr der notwendigen Naehrstoffe vermittels der Leibeshoehlenfluessigkeit.

Die Teile des Hinterfluegels, denen der Vorderfluegel in der Ruhelage unmittelbar aufliegt bezw. ueber die sich der Vorderfluegel beim Ausbreiten der Fluegel reibend hinwegbewegt, bezitzen keine Duftschuppen, sondern kleinere und groessere feste Schuppen mit starken Rippen, die als Gleitschuppen zu bezeichnen sind. Die Gleitschuppen des Vorderrandes unterscheiden sich von gewoehnlichen Konturschuppen nur durch staerkere Rippen, sie sind ebenfalls pigmentiert und gehoeren dem Gittertyp mit regelmaessigen Durchbruechen an (Abb. 3). Die entsprechenden Schuppen des Hinterrandes haben vieles mit den Duftschuppen gemeinsam (Abb. 3 e).

Auf dem Duftfeld des Hinterfluegels stehen ausschliesslich Duftschuppen. Auffallend ist die Anordnung in Reihen (Abb. 4), die darauf hindeutet, dass die Dufschuppen aus normalen Konturschuppen hervorgegangen sind. Sie stehen sehr locker und bedecken die Fluegellamelle nur unvollkommen. Auf 1 mm^2 kommen etwa 910-930 Insertionen (Abb. 4). Die Form der Duftschuppen ist langgestreckt und verbreitert sich vom Stiel gleichmaessig bis zur Mitte, von da ab nur noch wenig bis zur Spitze (Abb. 3 d). Der Koerper der Schuppe besitzt immer 2 starke Laengsfalten, die von der Spitze parallel zu den Raendern 2/3 der Gesamtlaenge durchlaufen (Abb. 3 d_1). Sie sind basalwaerts flach, zur Spitze hin werden sie hoeher. Da die Faltung ungleichmaessig ist, laufen die Rippen in der Aufsicht nicht parallel, sondern sind zu den Falten hin geneigt. Es ist auffallend, dass die Formen der Duftschuppen des ganzen Feldes sehr regelmaessig und gleichfoermig sind. Im Gegensatz zu den Duftschuppen sind die Gleitschuppen des Hinterrandes (Abb. 3 e) des Duftfeldes ungleichfoermig gebaut. An den hinteren Grenze des Feldes aehneln sie in der Form den Duftschuppen. Je naeher sie am hinteren Rand des Fluegels stehen, desto kuerzer und breiter werden sie. Sie besitzen ebenfalls Laengsfalten, doch sind diese flacher und gleichmaesig hoch, so dass die Rippen nicht oder nur wenig aus der optischen Laengsrichtung verschoben sind. Es finden sich in der Naehe des Duftfeldes Gleitschuppen mit zwei Laengsfalten, die fast bis zum Stiel laufen, am Hinterrand des Fluegels

besitzen sie jedoch 3 oder 4 Laengsfalten, von denen immer nur die aeusseren bis zur Basis laufen. Nicht selten treten kurze unvollstaendige Falten auf.

3. *Cosmosoma auge.*

Zur Beschreibung gelangt ein Exemplar mit der Gesamtkoerperlaenge von 14,1 mm. Die Groesse des Vorderfluegels betraegt:

Laenge des Vorderrandes vom Gelenk bis zum Ende von R_4: 17,8 mm
Laenge des Aussenrandes vom Ende von R_4 bis zum Ende von An_2: 9,8 mm
Laenge des Hinterrandes vom Gelenk bis zum Ende von An_2: 11,4 mm

Das Abdomen besitzt, einschliesslich der Haarbueschel am Ende, von unten gemessen 7,2 mm Laenge.

Wie bei den hoeher entwickelten Schmetterlingen allgemein ist das erste Ventrit voellig reduziert. Das 2. Ventrit ist beim Maennchen dieser Art stark vergroessert und bildet eine Platte, die weit ueber 1/3 der Abdomenlaenge beansprucht. Das 3. Ventrit ist von aussen nicht sichtbar, da es in der Hoehlung des Duftorgans liegt. Das 4. Ventrit ist an den Seiten lang, in der Medianlinie nur sehr schmal. Der uebrige Teil des Abdomens ist normal ausgebildet (Abb. 5).

Unter dem modifizierten 2. und 4. Ventrit liegt ein kompliziertes Duftorgan, dessen Aufbau aus der Abb. 6 hervorgeht: An das Ende der grossen Platte des 2. Ventrits (V_2) schliesst sich eine stark verlaengerte Intersegmentalmembran (I_2) an, die an ihrem Beginn eine duenne, hyaline Falte bildet, die im Aufblick von unten als schmaler Saum (B) zu erkennen ist (entschupptes Praeparat). Den Abschluss der Platte bildet eine verstaerkte Chitinleiste (CL_2), auf der mehrere Reihen wechselnd langer (730 — 850 micra) Schuppen stehen. Diese, im weiteren Deckschuppen (D_2) genannten Bildungen sind schlank und schwach sichelfoermig gebogen mit einer Breite in der Mitte von etwa 10 micra, an der Spitze von etwa 30 bis 35 micra (Abb. 7 b). Unter diesen Deckschuppen stehen mehrere Reihen (5 — 7) anders gearteter Schuppen (Saumschuppen, SC). Sie sind im Gegensatz zu den dunkelgefaerbten Deckschuppen pigmentlos und hyalin (Abb. 7 a). Waehrend die Deckschuppen eine sehr feine Gitterstruktur erkennen lassen, besitzen die Saumschuppen relativ wenige aber starke Rippen. Die Membran zwischen den Rippen zeigt nur sehr kleine, unregelmaessige Durchloecherungen in je einer Linie. Ihr Lumen (Querschnitt in Abb 7 d) ist sehr gross und von Trabekeln fixiert. Ihre Laenge ist mit 550 — 650 micra wesentlich geringer als die der Deckschuppen, so dass sie unter diesen voellig verdeckt liegen (Breite in der Mitte 30 micra, kurz vor der Spitze 50 bis 80 micra).

Am Ende der langen Intersegmentalmembran des 2. Ventrits setzt an einer kleinen Falte des sich verdickenden Cuticula der ventrale Hauptlaengsmuskel an (MU), der den Beginn des 3. Ventrits angibt.

Der Anfang dieses Teils ist druesig und besitzt sehr dicht stehende, duenne haarfoermige Borsten, die als Filzborsten bezeichnet und weiter unten gesondert besprochen werden. Die Filzborsten sind die Ausfuehrorgane der Druesenzellen.

Aus der Tiefe dieser Einfaltung erhebt sich das 3. Ventrit mit einer sehr duennen Cuticula bis zur Hoehe der Platte des 2. Ventrits, wo es wie das vorige Segment eine Chitinleiste (CL_3) bildet. Der vorhergehende membranoese Teil des 3. Ventrits hat eine schuppenartige, stark runzelige Oberflaeche, entsprechend der Abb 8 a. Auf die Chitinleiste folgt die Intersegmentalmembran (I_3), die mit einer duennen hyalinen Falte beginnt und deren Kante mit einer Reihe kleiner Chitinzaehnchen besetzt ist (Abb. 6 Z und Abb. 8 b). Die Intersegmentalmembran des 3. Ventrits bildet eine weitere tiefe Einsenkung in den Koerper. An ihrem Enden findet sich dieselbe Bildung wie in der vorhergehenden Einsenkung mit dem Ansatz des ventralen Hauptlaengsmuskels.

An dieser Stelle beginnt das 4 Ventrit mit einer druesigen Flaeche, die ebenfalls Filzborsten traegt. Anschliessend folgt ein membranoeser Chitinteil, der sackartig sich nach hinten erweitert. Die Cuticula ist stark gerunzelt (Abb. 9). Dieser Hohlraum ist dicht mit Filzborsten ausgefuellt und wird nach oben von einer stark chitinisierten Platte abgeschlossen, die im Aufblick von unten in Abb. 6 mit IV bezeichnet ist und dem 4. Ventrit entspricht. Im Raum zwischen den beiden Druesenplatten (DP_1 und DP_2) und dem parietalen Blatt des Fettkoerpers finden sich grosse Tracheensaecke (TS), die sowohl in die Platte des 2. Ventrits wie auch in den hinteren Teils des 3. Ventrits Auslaeufer entsenden (ST_1).

In der Ruhe ist das Organ in der Weise geschlossen, dass die Teile V_4, CL_3 und CL_2 zusammenliegen und einen relativ dichten Abschluss der beiden Hohlraeume bilden. Ueber die Verschlussoeffnungen legen sich die Deckschuppenreihen und die Saumschuppen, die von den Deckschuppen ueberlagert werden. Hierbei legt sich der hyaline Rand des 2. Ventrits gegen die Chitinleiste (CL_3) des 3. Ventrits und der Saum des 3. Ventrits gegen die Vorderkante des 4. Ventrits (V_4). Diese Schliessbewegung wird durch die ventralen Hauptlaengsmuskeln (MU) ermoeglicht. In dieser Lage saugt sich der Haarfilz voll Sekret aus den Druesenplatten.

In der Funktion wird das Organ geoeffnet: Die Bewegung erfolgt durch Kontraktion der dorsalen Hauptlaengsmuskeln, die das Abdomen nach oben biegen und damit eine Dilatation der ventralen Segmentgrenzen hervorrufen. Diese Dilatation wird verstaerkt durch Einpumpen von Luft in die Tracheensaecke, wodurch die versenkten Teile der Intersegmentalmembran des 2. und 3. Ventrits mit den Druesenplatten und dem Haarfilz gehoben werden. Gleichzeitig werden durch die Auslaeufer der Tracheensaecke in die Intersegmentalmembran (ST_1) letztere gedehnt. Ob hierdurch auf den Haarfilz ein Druck ausgeuebt wird, ist nicht zu entscheiden, jedoch naheliegend. In diesem Zuztand haben sich die beiden Eingaenge der Einfaltungen geoeffnet und das Sekret kann vom Haarfilz verdunsten. Letzterer Vorgang wird ver-

staerkt durch die Saumschuppen, die sich (wahrscheinlich schon durch die Oeffnungsspalte in der Ruhelage) voll Sekret gesogen haben.

Die Saumchuppen sind auch in aelterem, trockenem Material immer miteinander verklebt. Nach 2 Tagen haben sich unter dem Deckglas um sie herum amorphe und nadelfoermige Kristalle gebildet, die bei Erwaermen schmelzen, sich beim Abkuehlen aber wieder neu bilden. Beim Schmelzen kann beobachtetwerden, dass die Fluessigkeit sofort von den Schuppen und von zufaellig vorhandenen Filzborsten aufgesogen wird. Dieselben Kristalle bilden sich um Teile der Druesencuticula im Trockenpraeparat unter dem Deckglas. Die Rippen der Saumschuppen stehen weit auseinander (auf 100 micra Breite entfallen nur 68 Rippen). Bezeichnend fuer sie ist, dass sie nicht bis zu den Raendern der Schuppe reichen, so dass die Schuppe von einem hyalinen Saum eingefasst wird.

Filzborsten:

Die Druesencuticula ist sehr dicht mit langen, weiss erscheinenden, duennen Borsten besetzt. Ihre Laenge schwankt zwischen 1 650 und 1 800 micra, ihre Breite am Stiel betraegt 3-3,5 micra, in der Mitte 5,5-5,6 micra, 100 micra vor der Spitze etwa 10 micra. An dieser Stelle verringert sich der Durchmesser auf 3 micra. Die Spitze selbst bildet eine 9-11 micra lange und 6,5-7 micra breite Anschwellung. Der Insertionsplan (Abb. 10) zeigt, dass auf 1 mm^2 etwa 60 000 Borsten stehen. Die Oberflaeche der Borsten laesst im Lichtmikroskop eine wabige Struktur von Verstaerkungsbalken erkennen, fuer die das Wort Rippen nicht mehr zutrifft.

Der feinere Aufbau ist mit dem Lichtmikroskop nicht mit ausreichender Sicherheit zu klaeren. Es wurden deshalb Beobachtungen und Aufnahmen mit dem Elektronenmikroskop durch H. Muth im hiesigen Institut durchgefuehrt. Das Objekt eignet sich fuer solche Arbeiten ausgezeichnet, da in der Borste weder Pigmente abgelagert sind, noch das Chitin Farbstoffe in groesserer Menge enthaelt. Aus den Aufnahmen (Abb. 11-14) laesst sich erkennen, dass die Borste aus einem lockeren, unregelmaessigen Gittergeruest besteht, das von feinen Chitinaesten durchzogen wird. Von den Geruestbalken liegt nur ein Teil auf dem Zylindermantel der Borste, ein Teil biegt in das Innere des Hohlraums hinein, die erstgenannten Balken verbindend. Es ist zu vermuten, dass die ersteren Teile den Rippen, die letzteren den Konektiven entsprechen. Der Querschnitt der Balken stellt ein gleichseitiges Dreieck dar, dessen unpaarer spitzer Winkel den First des Balkens bildet. Die Hoehe der Balken betraegt etwa 0,4 micron, die Breite 0,2 micron. Die feinen Chitinaeste des Inneren duerften den Trabekeln der normalen Schuppen entsprechen. Ihr Durchmesser schwankt zwischen 0,05 und 0,025 micron. An der Spitze schliessen sich die Geruestbalken nicht zusammen, sondern lassen eine Oeffnung frei (Abb. 13 und 14). Mit dem Lichtmikroskop war nicht zu entscheiden, ob zwischen dem Geruest eine Membran gespannt ist. Die Aufnahmen aus dem EM zeigen keine

Schatten in den Durchbruechen, so dass als sicher anzunehmen ist, dass die Borsten keine Membran besitzen. Die Borste stellt einen Apparat dar, der eine ueberaus grosse Kapillarwirkung besitzt. Die grosse Anzahl so gearterer Borsten, die sich zu den Haarfilzen zusammen schliessen, muessen als hochspezialisierter Saugapparat mit relativ grosser Kapazitaet betrachtet werden.

Histologische Untersuchungen der Druesenplatten:

Die Hypodermis der Druesenplatten (Abb. 15) besteht aus schmalen, langen Druesenzellen mit scharf gezeichneten Zellgrenzen. Die Laenge der Zellen betraegt etwa 30-35 micra, die Breite 7-10 micra. Der relativ grosse Kern mit 5-7 micra Breite und 8-9 micra Laenge liegt zumeist im basalen Teil, kann aber auch haeufig durch die Vielzahl der Kerne an der Basis in die Mitte oder sogar in den apikalen Teil verlagert sein. Das Chromatin des Kernes ist locker und bei Fixierung nach CARNOY feinkoernig und zeigt 1-3 kleine, aber scharf gezeichnete Nucleoli und ein sehr zartes Fadengeruest. Das Zellplasma bietet das typische Bild einer Druesenzelle mit wabig-vakuoliger Struktur, die sich je nach dem Funktionszutand mehr oder weniger deutlich zeigt. Beachtenswert ist die Ansammlung von Plastmosomen, die sich unmittelbar ueber der Basalmembran in Form von sehr kleinen (0,8-1 micron) ovalen Koernchen finden lassen (nur bei Faerbung mit Eisenhaematoxylin gefunden). Der apikale Pol ist nicht wie bei der Mehrzahl der beschriebenen Duftdruesen durch eine spezialisierte Anordnung des Plasmas hervorgehoben. Nach laengerer Fixierung (2-3 Tage) nach CARNOY laesst sich hier eine undeutliche Faserstruktur nachweisen, verursacht durch Extraktion plasmatischer Substanzen durch den Alkohol des Fixadors.

Zwischen den oberen Teilen der Druesenzellen finden sich zahlreiche, degenerierte kleinere Zellkerne, die als Kerne der tormogenen Zellen oder Basalringzellen zu bezeichnen sind.

Den Abschluss der Druesenplatte bildet die Cuticula mit den Filzborsten, sie ist etwa 6-8 micra dick. Sie wird von den eng bei einander stehenden Insertionskanaelen der Borsten durchbrochen. Dazwischen stehen senkrecht auf der Cuticula 3-5 micra lange Chitindornen. Die Insertion der Borsten ist einfach: im apikalen Teil des Kanals befindet sich ein ringfoermiger Vorsprung (R), an dem die Insertionsmembran der Borste ansetzt. Letztere beginnt mit einem duennen, nicht spezialisierten Stiel und erweitert sich beim Verlassen der Cuticula gleichmaessig bis zur endgueltigen Breite.

Unterhalb der Druesenhypodermis schliessen sich die erwaehnten Tracheensaecke an mit starken, weit auseinander stehenden Ringfaeden (FES). In Abb. 6 stossen zwei solcher Saecke aneinander (s. Pfeil A). Waehrend die Hypodermis der Tracheensaecke im allgemeinen kollabiert ist, ist sie unterhalb der Druesenplatte sehr stark entwickelt und besteht aus grossen, plasmareichen Zellen mit scharfen Zellgrenzen und grossen Zellkernen. Letztere besitzen ein oder zwei grosse Nucleoli

und grobkoerniges Chromatin, das mit Haematoxylin staerker faerbbar ist als das in den Druesenzellen. Das Plama dieser Zellen unterscheidet sich kaum von dem der Druesenzellen. Plastosomen lassen sich nicht nachweisen. Zwischen den beiden aktiven Hypodermen lassen sich die duennen Basalmembranen erkennen, zwischen denen groessere oder kleinere Spaltraeume liegen, die mit Leibeshoehlenfluessigkeit (Fixierung nach BOUIN) gefuellt sind.

Die Funktion dieser Zellen ist unklar. Direkte Verbindung zur Cuticula der Druesenplatte besitzen sie nicht. Obwohl sie einen druesenzellartigen Charakter zeigen, koennen sie nicht als solche angesprochen werden. Vielleicht stehen sie indirekt mit den Druesenzellen in Verbindung, indem sie diesen plasmaarmen Zellen als Ernaehrungszellen in der Weise dienen, dass sie die Nahrungsstoffe zur Bildung der Sekrete vorbereiten, die dann von den Zellen der Druesenplatte endgueltig zubereitet und ausgeleitet werden. Es ergaebe sich hierdurch eine Parallele zu den Duftdruesen der *Danaidae,* die MUELLER (1879), ILLIG (1902) und Eltringham (1913 und 1915) beschrieben und wo sich auf den benachbarten vergroesserten Ader druesige, aber stark vergroesserte Hypodermiszellen befinden, die von den Autoren teilweise als Druesenzellen bezeichnet werden. Ergaenzende eigene Untersuchungen an Danaiden ergaben, dass die Druesenplatte der Fluegeldruese nur durch die Ader Cu_{1b} ernaehrt werden kann, da die Fluegelmembran im Umkreis der Duftdruesentasche normal ausgebildet ist, d.h. dass die beiden Lamellen fest aufeinander liegen und durch Trabekel in dieser Lage fixiert werden. Nur zwischen der Tasche und dem vergroesserten Teil der Ader besteht eine offene, kanalartige Verbindung zur Hypodermis der Tasche. In dem der Tasche zugewandten Teil der Ader liegt eine Schicht stark vergroesserter Hypodermiszellen. In der Ader findet sich ausser Nervenaesten und der Trachee nur reichlich Leibeshoehenfluessigkeit. Die Hypodermis ist — besonders am Eingang zu dem Kanal — von der Cuticula abgehoben. Der entstandene Raum ist mit einem mit OsO_4 fixierbaren, faedig erscheinenden Sekret angefuellt, das sich ebenfalls in dem Spaltraum und den Raeumen an der Basalmembran findet. Die Zellen der Adern haben keine Ausfuehrapparate wie sie von ILLIG angegeben werden. Die von letzterem Autor dargestellten "Duftborsten" entsprechen den auf allen Adern gefundenen Sinnesborsten, die eventuell als Rezeptoren fuer den "Luftstroemungssinn" zu betrachten sind.

Die Entscheidung ueber die Frage der "Ernaehrungszellen" muss fuer weitere Untersuchungen verbleiben. Es kann hier nur darauf hingewiesen werden, dass auch bei *Erebus odoratus* in der Duftdruese der Hintertibie von BARTH (1952) aehnliche Zellen gefunden wurden, die auf die gleiche Funktion schliessen lassen.

C. Zusammenfassung.

1. Es werden die maennlichen Duftapparate der folgenden *Syntomidae* (= *Ctenuchidae*) beschrieben: *Androcharta diversipennis, Cosmosoma ignidorsia* und *C. auge.*

2. Bei den beiden ersten Arten findet die Kopulation am Tage statt, der maennliche Sexualduftapparat ist klein und wenig entwickelt.

3. Bei *C. auge* findet die Copula nachts statt, der Duftapparat ist hochentwickelt und relativ sehr gross.

4. *C. ignidorsia* besitzt ein Duftschuppenfeld auf dem vorderen Femur. Als Schutzeinrichtung dient eine unbeschuppte flache Rinne der vorderen Coxa. Die Duftschuppen stehen unregelmaessig.

5. *A. diversipennis* traegt ein Duftschuppenfeld auf der Oberseite des Hinterfluegels. Als Schutzeinrichtung dient der Vorderfluegel. Die Duftschuppen sind in Reihen angeordnet.

6 a) Das Duftorgan von *C. auge* besteht aus zwei versenkten Druesenplatten des dritten und vierten Ventrits, die von Auswuechsen des zweiten und dritten Ventrits bedeckt werden.

b) Die Hohlraeume hierunter sind von einem Haarfilz ausgefuellt, der von den Borsten der Druesenplatten gebildet wird.

c) Die Druesenkomplexe koennen durch Muskelzug geoeffnet und geschlossen werden. Durch ein System von Tracheensaecken wird der Oeffnugsvorgang verstaerkt.

d) Ueber die Oeffnung legen sich in der Ruhe grossflaechige Schuppen, die die Verdunstung des Sekrets foerdern, und lange schmale Deckschuppen.

e) Untersuchungen mit dem Elektronenmikroskop ergeben das Fehlen einer Membran zwischen dem Balkenwerk der hochspezialisierten Borsten des Haarfilzes.

f) Die Druesenhypodermis besitzt sehr kleine Druesenzellen mit Plastosomen. Die unter den Druesenplatten liegenden Teile der Tracheensaecke haben stark vergroesserte Zellen. Es wird vermutet, dass diese Zellen als Ernaehrungszellen eine Rolle bei der Bildung des Sekrets spielen. Es wird auf parallele Beobachtungen an der Fluegeldruese von Danaiden und den Beindruesen von Erebus odoratus hingewiesen, wo vergroesserte Zellen in der Naehe der Druesenzellen vermutlich eine Rolle bei der Herstellung des Sekrets spielen.

D. Literatur.

BARTH, R., 1952, Das maennliche Duftorgan von *Erebus odoratus* L (*Lepidoptera, Noctuidae*), Zool. Jb. Anat. 72: 289-301, 10 figs.

BARTH, R., 1952, Allgemeine Betrachtungen ueber die maennlichen Sexualduftorgane der Lepidopteren (1.-4. Regel). Memórias do Instit. Osw. Cruz, 51.

ELTRINGHAM, H., 1913, On the scent apparatus in the male of *Amauris niavius* L. Trans. Ent. Soc. London 1913: 399-406, 1 est.

ELTRINGHAM, H., 1915, Further observations on the structure of the scent organs in certain danaine butterflies. Trans. Ent. Soc. London 1915: 152-176, ests. 11-20.

ILLIG, K. G. 1902, Duftorgane der maennlichen Schmetterlinge. Zoologica Vol. 38: 1-34, estas. 1-5.

MUELLER, F., 1879, As máculas sexuais dos indivíduos masculinos das espécies *Danais erippus* e *Danais gilippus*.
Arch. do museu nac. Rio de Janeiro, Vol. II.

E. Abkuerzungen in den Abbildungen.

An¹ erste Analader
B Saum des 2. Ventrits
BO Borsten
CL_2, CL_3 Chitinleiste des 2. und 3. Ventrits
CO Coxa
CU Cuticula
Cu_{1a}, Cu_{1b} Cubitalaeste
D_2 Deckschuppen
DF Duftschuppenfeld
DK Druesenzellkerne
DO Dornen
DP_1, DP_2 1. und 2. Druesenplatte
F Falte
FE Femur
FES Ringfaeden der Tracheen
GE Gelenk
HD Druesenhypodermis
HT Tracheenhypodermis
I_2, I_3 2. und 3. Intersegmentalmembran
KO Konturschuppen
KT Kerne der Basalringzellen
M_{1-3} 1.-3. Medialast
MU Muskel
MUB Muskel der Abdomendasis
O Oberseite
q Querader
R Rinne der Coxa
R_1 Radius
RH Hinterrand des Fluegels
RI Basalring
Rs sector radii
S Vorderrand des Fluegels
Sc Subcosta
SC Verdunstungsschuppen
SP Spaltraum
T Tibia
TK Kern der Tracheenhypodermis
TR tormogene Zelle
TS Tracheensaecke
TS_1 Erweiterungen der Tracheensaecke
TW Tracheenwand
V_1 Erweiterung des Hinterfluegels
V_2 2. Ventrit
V_4 Vorderrand des 4. Ventrits
VF Vorderfluegel
Z Chitinkegel
II-VIII 2.-8. Abdominalsegment

Estudos sôbre as placas das glândulas de cêra da lagarta de Tolype serralta (Lepidoptera, Lasiocampidae)

de

Rudolf Barth

(com 3 figuras)

No seu trabalho sôbre as glândulas de cêra ventrais das lagartas de *Hesperiinae* DETHIER *) (1942) dá uma demonstração nítida da morfologia e histologia destas glândulas hipodermais. As glândulas apresentam placas simples de células cúbico-cilíndricas que reproduzem secreção. Esta secreção penetra pela cutícula não especializada e cristaliza na superfície numa espêssa de cêra. Com respeito à significação da secreção na vida da lagarta DETHIER supõe: "There can bee little doubt that the chief purpose of this material is to discourage the accumulation of water in the cocoon and wetting of the chrysalis".

Correspondendo à êstes órgãos nas *Hesperiinae* encontram-se glândulas de cêra iguais no lado ventral da lagarta adulta da *Lasiocampidae Tolype serralta* do Brasil. Em comparação com as condições histológicas descritas por DETHIER encontra-se aqui um grau de evolução bem mais elevado que — correspondendo ao grau de evolução geralmente mais elevada da *Lasiocampidae* — não só histològicamente como também sistemàticamente merece interêsse especial.

As placas glandulares da lagarta de *Tolype serralta* encontram-se no I., II. e VII. segmento obdominal e, podendo ser reconhecidas do lado de fora como manchas ovais não pigmentadas, ficam situadas entre a linha ventral e as dobras laterais (fig. 1). Os dois pares anteriores ocupam quase dois têrços do comprimento do segmento. Os diâmetros maiores de dois ovais vizinhos são orientados de forma que os seus prolongamentos para trás convergendo encontram-se quase no limite posterior do segmento na linha ventral. As manchas do VII. segmento são menores, mais ou menos arredondadas e quase não atingem a metade do comprimento do segmento. A cutícula das placas glandulares está coberta densamente com cerdas sem pigmento, rígidas e qua-

* DETHIER, V. G., 1952, Abdominal glands of Hesperiinae. Jour N. Y Ent. Soc. Vol. 50: 203-206, 1 fig., 1 est.

se verticais do mesmo tamanho nas quais está colada uma camada espêssa e uniforme de material de secreção de cinza-clara a qual as pontas das cerdas freqüentemente não mais superam. A cêra é cristalizada em forma de asbesto em fibras paralelas que juntam-se em grupos e ficam com o seu eixo longitudinal verticalmente na cutícula e assim paralelamente às cerdas. A grossura da camada nas quatro placas anteriores pode atingir 600-650 micra, nas duas posteriores 500 a 450 micra. O ponto de fusão está em 76° C. As fibrilas são muito finas mostrando ainda reconhecíveis estruturas duplas sendo o seu diâmetro aproximadamente 0,2 micron. Na luz polarizada monstram elas uma forte fração da luz vertical — e paralelamente à planície de polarização. A secreção é muito resistente à influenças químicas, comportando-se da mesma forma como DETHIER descreveu-a nas *Hesperiinae:* hidrofugal e insolúvel nos meios de solução comuns e ácidos e alcalóides anorgânicos, êstes dois últimos grupos quase não penetram nela o que porém é fácil com ácidos orgânicos. Êsses últimos dissolvem-na quando frios devagar, quando quentes mais depressa.

Entre as citadas cerdas encontram-se algumas maiores com a pigmentação mais forte que possuem grandes células glandulares na sua inserção. Elas são idênticas com as cerdas urticantes distribuídas sôbre o corpo todo. Em diversos pontos nascem músculos menores cuja inserção é um tanto abaixada e marcada por uma pigmentação mais forte produzida pelo aumento da epicutícula escura. Os músculos não estão ligados à função das placas glandulares. Trata-se de músculos comuns do esqueleto.

A apreciação dos resultados histológicos pode ser feito no presente caso com mais facilidade do que nas glândulas das *Hesperiinae* pois os elementos construtivos são essencialmente maiores: a célula glandular tem ligação com a cutícula apenas por uma parte apical em forma de um tubo (fig. 2). O corpo principal desceu para baixo aonde êle aumentou em forma de uma peira e é incluído como as células da hipoderme pela membrana basal aqui bastante forte. Nesta forma as células glandulares apresentam-se como células hipodermais modificadas funcional — e histològicamente. No aumento está situado o núcleo da célula glandular formado também mais ou menos em forma de pera com diâmetros em média de 15 a 10 micra. A célula glandular inteira tem na parte central da placa um comprimento até 70 micra e uma largura na base de sòmente 20 micra. O plasma é na parte basal bem espumoso (fixação segundo BOUIN — DUBOSQ — BRASIL) mostrando depois de osmificação uma consistência nìtidamente granulosa. No bordo basal encontram-se verticalmente à membrana basal finas listras de ergastoplasma (fàcilmente fixadas segundo CARNOY). O núcleo é rico em cromatina possuindo um grande nucléolo ou diversos menores nucléolos.

Além destas células glandulares encontram-se células bastantes menores com plasma homogêneo com coloração mais forte e núcleos pequenos pobres de cromatina e oval estreitos. Êles circundam o prolon-

gamento em forma de tubo das células glandulares acompanhando-a até a cutícula. Não devem ser consideradas células de canal pois não encontram-se em redor de um canal de excreção mas sim representam células da hipoderme não modificadas das quais algumas devem ser homologisadas com as células do anel basal e da membrana da inserção normal das cerdas. Desta forma encontram-se na hipoderme duas camadas de núcleos celulares uma basal constante de grandes núcleos glandulares e uma medial-apical constante de muitos núcleos das células da hipoderme.

A cutícula das placas glandulares tem a mesma grossura como a vizinha. As lamelas paralelas são mais nítidas principalmente na parte basal. Aqui a cutícula forma saliências e listras baixas e irregulares que entram no meio das células da hipoderme. A epicutícula é grossa constando de dentes e elevações densos com pigmentação escura.

Cada polo apical das células glandulares continue num tubo plasmático para dentro de um canal vertical da cutícula. Êsses canais variam muito na sua largura (5 a 15 micra) dirigindo-se à inserção das cerdas que estão verticalmente na cutícula. Evidencia-se que à cada célula glandular pertence uma cerda.

As cerdas que têm um comprimento de 750 a 800 micra e são curvadas ligeiramente depois do primeiro têrço, têm um diâmetro de 10 micra que diminui uniformemente para a ponta fina. A superfície da cerda é áspera e tomada por elevações irregulares que podem ser demonstradas até a ponta. Na parte inferior e vertical a parede externa da cerda está coberta com escaminhas de quase 4 micra de comprimento e triangulares espalhadas em tôda superfície. Na parte basal a ponta das escaminhas é dirigida para cima. Depois de 4 a 5 escaminhas elas viram de repente sem passagem por 180° e a sua ponta dirige-se para baixo. A formação da superfície da cerda está aparentemente ligada à fixação da cêra entre as cerdas. A parede da cerda é grossa constando de quitina homogênea e fortemente encrustada. Por meios óticos não podem ser encontrados poros nem outros pontos de secreção.

A inserção das cerdas (fig. 3) (visível por causa da epicutícula forte e escura sòmente em cortes de 2 a 3 micra) consta de um copo de inserção vertical formado pelas camadas superiores da exocutícula. Êle perfura a epicutícula. A parede externa e interna correm completamente paralelas. Na parte baixa a parede interna passa para uma membrana extremamente fina formando algumas dobras e inserindo-se na base da cerda. A parede da cerda engrossa na saída formando um fechamento completo de forma que a secreção não pode entrar no lume da cerda. O interior da cerda está sempre vazio. O ponto de difusão parece ser a membrana de inserção da cerda. Assim forma-se a camada de cêra de baixo para cima saindo do copo de inserção incluindo as cerdas e apoiada por estas.

RESUMO.

As glândulas de cêra das lagartas adultas da *Lasiocampidae Tolype serralta* do Brasil são descritas morfolôgica — e histolôgicamente. As células glandulares juntam-se em placas mostrando um grau de evolução mais alto em comparação com as lagartas de certas *Hesperiinae* (DETHIER 1942): Deslocamento das células glandulares para baixo, formação de um canal plasmático que interrompe a posição das células legítimas da hipoderme, canais na cutícula, cerdas especializadas para segurar a secreção na superfície do corpo e saída da secreção pela membrana de inserção da cerda (— a membrana do anel basal).

Fig. 1. Esquema da lagarta da *Tolype serralta* visto por baixo, situação das placas glandulares. B pernas falsas, C cabeça, DF placas glandulares, N pernas falsas traseiras, P pernas torácicas, Z manchas brancas do desenho do corpo, I — III segmentos torácicos Ia — VIIIa segmentos abdominais.

Fig. 1. Schema der Raupe von *Tolype serralta* von unten gesehen, Lage der Druesenfelder. B Bauchfuesse, C Kopf, DF Druesenfelder, N Nachschieber, P Thoracalfuesse, Z weisse Zeichnungsflecken, I-III Thoracalsegmente, Ia-VIIIa Abdominalsegmente.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

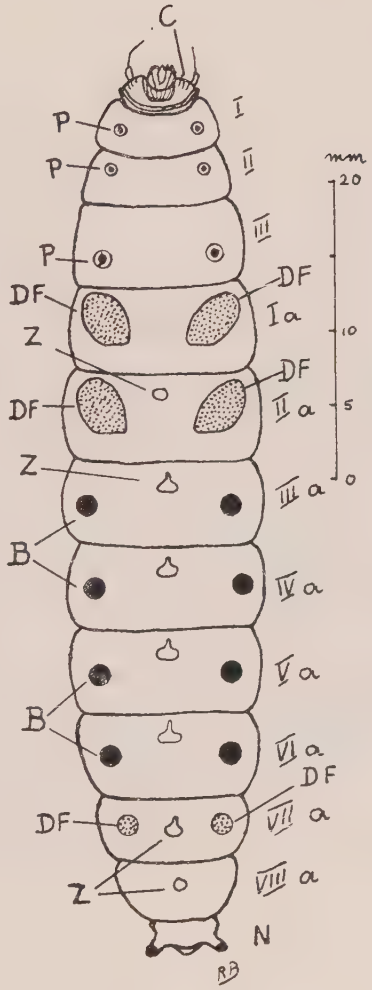


Fig. 2. Parte da hipoderme glandular. BM membrana basal, CL listras quitinosas, CU cutícula (sòmente partes inferiores), DK núcleos glandulares, DZ célula glandular, E ergastoplasma, HK núcleos da hipoderme, HZ célula da hipoderme, K canal.

Fig. 2. Teil der Druesenhypodermis. BM Basalmembran, CL Chitinleisten, CU Cuticula (nur untere Schichten), DK Druesenkern, DZ Druesenzelle, E Ergastoplasma, HK Hypodermiskern, HZ Hypodermiszelle, K Kanal.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

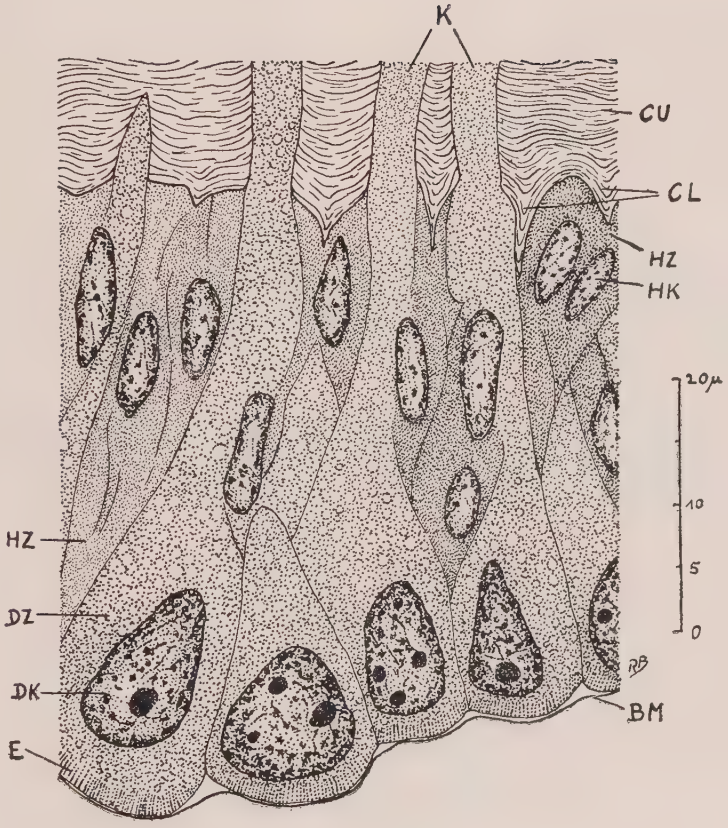
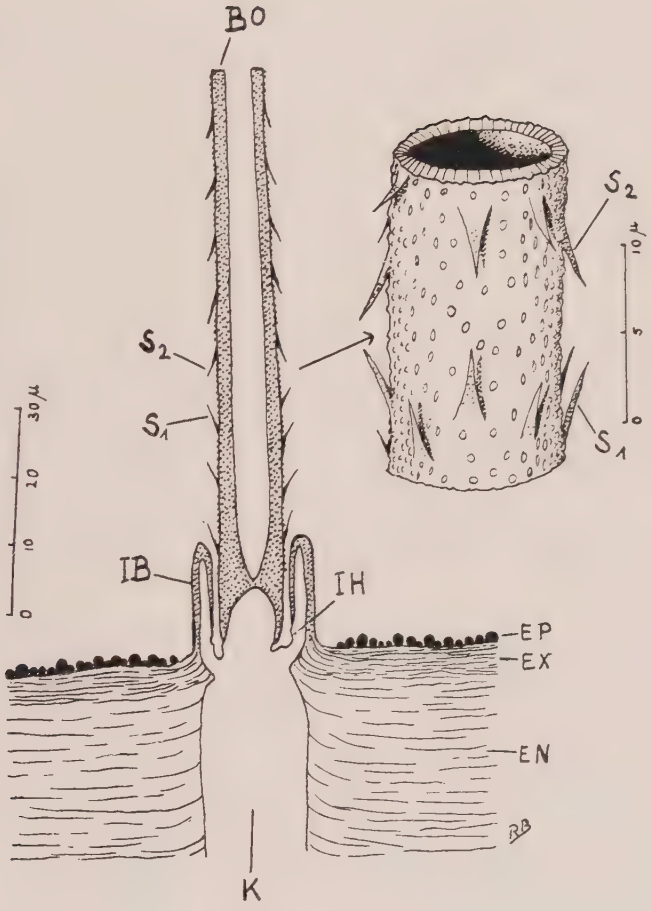


Fig. 3. Camada superior da cutícula com inserção e cerda no corte semiesquemático. No lado direito uma parte da cerda aumentada. BO cerda, EN endocutícula, EP epicutícula, EX exocutícula, IB copo de inserção, K canal, S_1 escaminhas inferiores, S_2 escaminhas superiores da cerda.

Fig. 3. Obere Schichten der Cuticula mit Insertion und Borste im Schnitt, halbschematisch. Rechts ein Teil der Borste vergroessert. BO Borste, EN Endocutícula, EP Epicutícula, EX Exocutícula, IB Insertionsbecher, K Kanal, S_1 untere Schueppchen, S_2 obere Syueppchen der Borste..

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



Untersuchungen an den Wachsdrusenplatten der Raupe von Tolype serralta (Lepidoptera, Lasiocampidae)

von

Rudolf Barth

(mit 3 Abbildungen)

In seiner Arbeit ueber die ventralen Wachsdruesen der Raupen einiger *Hesperiinae* gibt DETHIER (1942) eine klare Darstellung der Morphologie und Histologie dieser Hautdruesen. Die Druesen stellen einfache Platten cubisch-zylindrischer, sezernierender Zellen dar, deren Sekret die in keiner Weise spezialisierte Cuticula durchdringt und auf der Oberflaeche zu einer dicken Wachskruste erstarrt. In Bezug auf die Bedeutung der Sekretion im Leben der Raupe vermutet DETHIER: "There can be little doubt that the chief purpose of this material is to discourage the accumulation of water in the cocoon and wetting of the chrysalis".

Entsprechend diesen Organen bei *Hesperiinae* fanden sich ebensolche Wachsdruesen auf der Ventralseite der erwachsenen Raupe der brasilianischen *Lasiocampidae Tolype serralta*. Verglichen mit den von DETHIER beschriebenen histologischen Verhaeltnissen, ergab sich hier eine weitaus hoehere Entwicklungsstufe, die — korrespondierend mit der hoeheren allgemeinen Entwicklungsstufe der *Lasiocampidae* — nicht nur histologisch, sondern auch systematisch von Interesse ist.

Die Druesenplatten der Raupe von *Tolype serralta* finden sich im I., II. und VII. Abdominalsegment und liegen, von aussen als unpigmentierte ovale Flecken zu erkennen, beiderseits zwischen der Ventrallinie und den Lateralfalten (Fig. 1). Die beiden vorderen Paare nehmen etwa 2/3 der Segmentlaenge ein. Die grossen Durchmesser zweier benachbarter Ovale sind so gerichtet, dass ihre Verlaengerung nach hinten konvergierend sich etwa in der hinteren Segmentgrenze auf der Ventrallinie treffen. Die Flecken des VII. Segments sind wesentlich kleiner, mehr oder weniger abgerundet und erreichen kaum die Haelfte der Segmentlaenge. Die Cuticula der Druesenplatten ist dicht

* DETHIER, V. G., 1942, Abdominal glands of Hesperiinae. Jour N. Y Ent. Soc. Vol. 50: 203-206, 1 fig., 1 est.

mit pigmentlosen, starren, annaehernd senkrecht stehenden Borsten gleicher Laenge besetzt, an denen eine dicke einheitliche Kruste von weissgrauem Sekretionsmaterial haftet, ueber die die Spitzen der Borsten oft nicht mehr emporragen. Das Wachs ist asbesthartig in parallelen Fasern kristallisiert, die sich zu Buendeln locker zusammenschliessen und mit ihrer Laengsachse senkrecht auf der Cuticula und damit parallel zu den Borsten stehen. Die Dicke der Wachskruste kann auf den vier vorderen Platten 600 — 650 micra, auf den beiden hinteren 400 — 450 micra Hoehe erreichen. Der Schmelzpunkt liegt bei 76° C. Die Fasern sind sehr duenn, zeigen noch eben erkennbare Doppelkonturen mit Durchmesser um 0,2 micron. Im polarisierten Licht zeigen sie eine sehr starke Lichtbrechung senkrecht und parallel zur Polarisationsebene. Das Sekret ist gegen chemische Einfluesse ueberaus widerstandsfaehig und verhaelt sich ebenso, wie es Dethier fuer die *Hesperiinae* feststellte: wasserabstossend (hydrofuge), unloeslich in den ueblichen Loesungsmitteln und kalten anorganischen Saeuren und Basen. Von den letzten beiden Gruppen laesst es sich schwer benetzen, was mit organischen Saeuren dagegen leicht gelingt. Von letzteren wird es kalt langsam, warm dagegen schneller geloest.

Zwischen den genannten Borsten finden sich einzelne groessere, staerker pigmentierte Borsten, die grosse Druesenzellen an ihrer Insertion besitzen. Sie sind mit den ueber den ganzen Koerper verteilten Brennhaaren identisch. An mehreren Stellen setzen kleinere Muskeln an, deren Insertion etwas versenkt liegt und durch eine staerkere Pigmentierung, hervorgerufen durch Verstaerkung der schwarzen Epicuticula, gekennzeichnet wird. Die Muskeln stehen mit der Funktion der Druessenplatten nicht in Zusammenhang, sondern sind gewoehnliche Skelettmuskeln.

Die Beurteilung der histologischen Ergebnisse kann bei dem vorliegenden Objekt leichter durchgefuehrt werden als bei den Druesen der Hesperiinae, da die Bauelemente wesentlich groesser sind: Die Druesenzelle hat mit der Cuticula nur durch einen schlauchfoermigen Apikalteil Verbindung (Fig. 2). Ihr Hauptkoerper ist in die Tiefe gewandert und hat sich hier birnenfoermig erweitert, wird aber wie die Hypodermiszellen von der hier sehr starken Basalmembran eingeschlossen. Damit erweisen sich die Druesenzellen als funktionell und histologisch umgewandelte Hypodermiszellen. In der Erweiterung liegt der Druesenzellkern, der ebenfalls mehr oder weniger birnenfoermig gestaltet ist und durchschnittlich 15 und lo micra als Durchmesser hat. Die ganze Druesenzelle erreicht in der Mitte der Platte bis zu 70 micra Laenge, dagegen basal nur 20 micra Breite. Das Plasma ist im basalen Teil sehr fein vakuolig strukturiert (Fixierung nach Bouin — Duboscq-Brasil), nach Osmierung zeigt es deutlich koernige Konsistenz. Am Basalrand stehen senkrecht zur Basalmembran feine ergastoplasmatische Streifen (besonders gut mit Fixierung nach Carnoy sichtbar zu machen). Der Kern ist chromatinreich und besitzt einen grossen Nukleolus oder mehrere kleinere Nukleoli.

Ausser diesen Druesenzellen finden sich wesentlich zahlreicher kleine Zellen mit homogenem, sich staerker faerbendem Plasma und keinen, langovalen, chromatinarmen Kernen. Sie umgeben den schlauchfoermigen Fortsatz der Druesenzellen und begleitendiesen bis zur Cuticula. Sie sind nicht als Kanalzellen zu betrachten, da sie keinen ausleitenden Kanal umhuellen, sondern stellen nicht modifizierte Hypodermiszellen dar, von denen einige mit den Basalring- und Membranzellen der normalen Borsteninsertion zu homologisieren sind. Auf diese Weise finden sich in der Hypodermis zwei Schichten von Zellkernen, eine basal gelegene, bestehend aus grossen Druesenkernen, und eine medial-apikal gelegene, bestehend aus vielen kleinen Kernen der Hypodermiszellen.

Die Cuticula der Druesenplatten ist ebenso dick wie die benachbarte. Die parallelen Lamellen sind etwas deutlicher, besonders im basalen Teil. Hier bildet die Cuticula regellose niedrige Fortsaetze und Leisten, die sich zwischen die Hypodermiszellen schieben. Die Epicuticula ist dick und besteht aus sehr dicht stehenden Zaehnchen und Hoeckern, die schwarz pigmentiert sind.

Jeder Hals der Druesenzellen setzt sich als plasmatischer Schlauch in einen senkrechten Gang der Cuticula fort. Diese Kanaele variieren sehr in der Breite (5 — 15 micra) und laufen zur Insertion der senkrecht auf der Cuticula stehenden Borsten. Es zeigt sich, dass zu jeder Druesenzelle eine Borste gehoert.

Die Borsten (Fig. 3), die etwa 750 — 800 micra lang und nach dem ersten Drittel schwach gebogen sind, haben basal einen Durchmesser von lo micra, der sich zur duenn ausgezogenen Spitze gleichmaessig verringert. Die Oberflaeche der Borste ist rauh und mit unregelmaessigen Unebenheiten besetzt, die bis zur Spitze nachzuweisen sind. Im unteren, senkrecht stehenden Teil ist die Aussenwand der Borste mit etwa 4 micra langen, dreieckigen Schueppchen besetzt, die verstreut auf dem ganzen Umfang stehen. Im basalen Teil ist die Spitze der Schueppchen nach oben gerichtet. Nach 4 — 5 solcher Schuppen sind sie ploetzlich ohne Uebergang um 180 Grad gedreht und ihre Spitze weist nach unten. Die Oberflaechenbeschaffenheit der Borste steht offensichtlich mit der Befestigung des Wachses zwischen den Borsten in direktem Zusammenhang. Die Wandung der Borsten ist sehr dick und besteht aus homogenem, sehr stark inkrustiertem Chitin. Poren oder sonstige Austrittsstellen des Sekrets sind optisch nicht nachzuweisen.

Die Insertion der Borsten (Fig. 3) — wegen der starken, schwarzen Epicuticula nur an 2-3 micra dicken Schnitten zu erkennen — besteht aus einem senkrecht stehenden Insertionsbecher, der aus den obersten Schichten der Exocuticula gebildet wird und die Epicuticula durchstoesst. Die Aussen-und Innenwand laufen voellig parallel. In der Tiefe geht die Innenwand in ein ueberaus feines Haeutchen ueber, das einige Falten bildet und an dem basalen Enden der Borste ansetzt. Die Wandung der Borste verdickt sich an der Muendung und bildet einen

vollstaendigen Verschluss, so dass das Sekret nicht in das Lumen der Borste eintreten kann. Das Innere der Borste ist immer leer. Die Diffusionsstelle ist allem Anschein nach die Insertiosmembran der Borste. Dem entsprechend baut sich die Wachsschicht von unten, aus dem Insertionsbecher heraustretend, nach oben hin auf, die Borsten einschliessend und von diesen gehalten.

ZUSAMMENFASSUNG.

Es werden die Wachsdruesen der erwachsenen Raupe der brasilianischen *Lasiocampidae Tolype serralta* morphologisch und histologisch beschrieben. Die Druesenzellen schliessen sich zu Platten zusammen und zeigen verglichen mit denen der Raupen gewisser *Hesperiinae* (Dethier, 1942) eine wesentlich hoehere Entwicklung: Versenkung der Druesenzellen, Bildung eines plasmatischen Kanals, der die Lage der eigentlichen Hypodermiszellen durchbricht, Kanaele in der Cuticula, spezialisierte Borsten zum Befestigen des Sekrets an der Koerperoberflaeche und Austritt des Sekrets durch die Insertionsmembran der Borste (— Basalringmembran).

Considerações sôbre a dosagem do nitrogênio pelo método de Kjeldahl

Pedro Fontana

Laboratório de Bioquímica do Instituto Oswaldo Cruz

O método clássico para a determinação do nitrogênio total de um composto orgânico é o de DUMAS, que consiste na oxidação das substâncias orgânicas pelo CuO, absorção do CO_2 e do H_2O pela soda e H_2SO_4 sendo o N_2 medido volumètricamente. Os óxidos de N eventualmente formados são reduzidos por um fio de cobre incandescente colocado na corrente dos gases.

Posteriormente WILL e VARRENTRAPP desenvolveram um método em que o material é aquecido em mistura com cal sodada, ao vermelho, sendo o NH_3 produzido recolhido em HCl diluido, determinando-se o NH_3 por gravimetria com o cloroplatinato de NH_3. PELIZOT modificou o método usando um volume determinado de HCl padrão e titulando o excesso de ácido após a absorção de NH_3 (12).

KJELDAHL trabalhando com mosto de cervejaria desejava desenvolver um método que não obrigasse a redução do material a pó, que redundava em perda de tempo e introdução de erros. Tentou primeiro o método de WANKLIN para o N albuminoide que consiste na distilação com permanganato alcalino, obtendo depois melhores resultados aquecendo o material com permanganato e H_2SO_4 diluido. Finalmente chegou ao processo clássico que consiste no aquecimento da substância com H_2SO_4 concentrado seguido de adição cuidadosa de permanganato em pó. O próprio KJELDAHL já introduzira nestes primeiros tempos um catalizador de *oxidação* que foi o P_2O_5 (48).

O método de KJELDAHL (20) consiste em linhas gerais no seguinte:

1.ª fase

Mineralização do material por ação do H_2SO_4 em presença de catalizadores dando sulfato de amônio como produto final.

2.ª fase

A segunda fase consiste no deslocamento do NH_3 pela soda, destilação e absorção com uma solução ácida.

3.ª fase

A terceira fase consiste na titulação do NH_3 ou diretamente pelo HCl como se faz nos modernos métodos do ácido bórico e do K_2HPO_4 ou $NiSO_4$ $(NH_4)_2SO_4$ $.6H_2O$, ou titulando-se o HCl não neutralizado por uma solução de soda padrão.

Recentemente foi introduzida uma modificação por MARCALI eliminando as 2.ª e 3.ª fases pela adição de aldeido fórmico ao resultado da digestão, depois da neutralização e posterior titulação da substância formada. O aldeido fórmico reage com o NH_3 formando hexametilenotetramina conforme a observação de KOLTHOFF (22). Mais adiante daremos detalhes de tôdas estas modificações mais modernas, que merecem ao nosso ver atenção mais demorada. Antes porém vamos dar uma rápida passagem pela evolução do método em cada uma das suas fases:

O método original de KJELDAHL consiste na ação do H_2SO_4 catalizado pelo P_2O_5 até que o líquido de pardo passe a amarelo. Junta-se então cuidadosamente $KMnO_4$ em pó para completar a oxidação enquanto o líquido está ainda quente. Dilui-se em pouco de agua, alcaliniza-se e adiciona-se grânulos de Zn e distila-se o NH_3 para ser recebido na solução padrão de ácido.

WILLFARTH introduziu logo depois o uso de catalizadores metálicos para encurtar o tempo de digestão (54).

GUNNING empregou o $KHSO_4$ e ao mesmo tempo observou que o K_2SO_4 também acelerava a digestão pela elevação do ponto de ebulição do H_2SO_4 (10).

Os trabalhos de ARNOLD trouxeram vários aperfeiçoamentos à técnica do método quer pelo emprêgo do $CuSO_4$ com o Hg, quer pela introdução do ácido benzoico na análise de nitritos e nitratos, quer pelo estudo sistematizado do emprêgo dos diversos catalizadores usados na época, quer pelo estudo do problema do *N em anel* (ring N) (49).

Do princípio do século até 1930 a técnica da digestão não sofreu modificação importante, dedicando-se os pesquisadores mais ao aperfeiçoamento da aparelhagem do que à reação pròpriamente dita. A descoberta da enorme capacidade de catálise do Se feita por LAURO (23) despertou nos pesquisadores o interêsse pelo problema seguindo-se logo uma série de brilhantes estudos.

ILLARINOW e SSOLOVJENA (14) tentaram uma explicação do mecanismo de ação do Se o que foi completado pelo trabalho de SREENINASAN e SADAVISAN (41).

Segundo estes autores o Se e SeO formam um sistema de óxido-redução

$$Se \rightleftharpoons SeO$$

resultando daí as propriedades oxidantes.

Aliás já MELLOR no *Theoretical Inorganic Chemistry*, vol. X, página 433, edição de 1928 diz:

"O Se apresenta uma sequência alternada de oxidações e reduções".

Em presença de Hg, a ação do Se é mais intensa e eficiente (32), porque então se forma um segundo sistema em que a sequência de oxidação e redução é muito mais rápida:

$$SeO \rightleftharpoons S_2O_2$$

funcionando o Hg como aceptor de O.

Por outro lado, imediatamente após a descoberta de LAURO, já SANDSTED observou perdas por aquecimento prolongado com emprego de Se (38).

BRADSTREET observou que o aumento de Se, determina baixas no N (3).

VAN SLYKE e col. não conseguiram com nenhum dos catalizadores resultados satisfatórios para o triptofânio e a lisina que exigem aquecimento prolongado (47).

SREENINASAN observou que o uso de quaisquer catalizadores em quantidades maiores que o mínimo necessário determinam perdas em N (40).

O uso de ácido perclórico como foi recomendado por WICKS e FIRMINGER (53) tambem resulta em perdas de N. Estas perdas são atribuidas a formação de N livre (35).

Com referência a esta formação de N livre encontramos o trabalho de SCAGLIARINI e TORELLI (39), que embora não diretamente, vem esclarecer melhor a questão. Demonstraram êstes autores a formação do ácido nitroso por aquecimento de NH_4SO_4 em solução sulfúrica, em presença de $CuSO_4$.

Formado o nitrito de amônio êste se decompõe em H_2O e N_2, resultando em perdas para a dosagem.

Com o SeO a reação se passa da seguinte maneira:

$$2NH_3 + 3SeO \longrightarrow 3H_2O + 3Se + 2N\nearrow$$

segundo MICHAELIS (28).

GORTNER e HOFFMAN demonstraram a formação de aminas que são dêste modo uma outra causa de perdas em N (9).

Estas perdas são entretanto insignificantes e desprezíveis quando o tempo de digestão é pequeno. No caso porém de substâncias mais resistentes, tomam um aspecto de problema às vêzes de difícil solução. O problema da dosagem do N em anel (ring N) por exemplo é atualmente dos que mais preocupam os pesquisadores no assunto. KIRK recomenda no seu magnífico estudo (18) um exame mais aprofundado da questão.

Estamos realizando em nosso laboratório um estudo das curvas de kjeldalização de diferentes substâncias contendo N em anel, em relação com o tempo. Aparentemente temos encontrado curvas características para cada tipo de anel, decorrentes talvez das diferentes compensações entre a digestão progressiva das substâncias e perdas em N. Isto será entretanto objeto de um outro trabalho.*

Patel e Sreenivasan (34) realizaram um estudo da digestão de substâncias com N em anel, obtendo bons resultados com o emprêgo de (Se + Hg) seguido de deslocamento (soda + tiossulfato). Admitem êles a formação de complexos amônio-mercúricos que protegem o NH_3 já formado de subsequente oxidação sem prejuízo para a marcha geral do método que só exige posteriormente o cuidado de se cindir êstes complexos para a libertação do NH_3, o que se faz pelo tiossulfato.

Quanto ao mecanismo de formação de NH_3 os autores em geral admitem a ação deshidratante do H_2SO_4 a princípio seguida de oxidação.

O estudo do problema tem-se desenvolvido nos últimos anos com os trabalhos de Milbauer (29), Kahane e Carrero (15), Rosenthaler (37) e Quartaroli (36).

Parece que depois da deshidratação o processo segue um caminho complicado de oxidação e redução seguido na última fase de uma hidrólise que dá o NH_3, como resultado.

Na parte final daremos a técnica que usamos como rotina em cerca de 500 dosagens da qual consta naturalmente a técnica da digestão usada em cada caso.

Realizada a digestão, a fase seguinte consiste no deslocamento do NH_3 pela soda concentrada com arrastamento por vapor d'água ou aeração até a solução que absorve o NH_3 (HCl, H_3BO_3, etc).

Os primeiros pesquisadores usaram como aparelho um distilador comum. Mais tarde foi adaptado um sistema de segurança: "trap", consistindo de um alargamento em forma de bola impedindo a passagem direta do vapor que era condensado e então novamente vaporizado. Êste dispositivo impede a passagem de pequenas porções de soda para o distilado.

A primeira modificação importante foi introduzida por Parnas (33), sendo o seu aparelho melhorado e aperfeiçoado por Locket (25), que o tornou tão simples que pode ser totalmente montado com material comum de laboratório. A vantagem dêstes aparelhos, é de se realizar muitas distilações seguidas sem necessidade de desmontá-lo, podendo ser facilmente lavado e carregado com o novo material.

Inspirado naturalmente nas vantagens da técnica introduzida por Parnas, Kirk creou um aparelho em uma só peça, prevenindo com isto as possíveis perdas por escapamento nas conexões (17).

Usam também certos autores, vedar as conexões com silanos, procedimento que vem obtendo êxito (8).

---

* Durante a impressão do presente trabalho esses resultados foram publicados na Rev. Bras. Biol., *12*, (3), 279-284, 1952.

Outro detalhe da técnica que pode ser igualmente causa de êrro, é a transferência do material digerido para o aparelho de distilação. Por êste motivo adotamos em nossa técnica de rotina uma bateria de frascos de digestão adaptáveis diretamente ao destilador. Esta técnica aliás já fôra usada por NEEDHAM e BOELL (30).

Para a absorção do NH_3 têm sido usadas soluções diluidas de HCl e H_2SO_4 desde os primeiros tempos do método. Entretanto outra técnica mais expedita se desenvolveu com o correr dos tempos. Já NEUMANN (31) em 1912 sugeriu o emprego de volumes de ácido muito menores que os necessários para neutralizar o NH_3 absorvido, usando-se depois o mesmo ácido para a titulação. Esta técnica eliminou a necessidade de 2 soluções-padrão.

Seguindo o mesmo caminho WINCKLER (55) apresentou um método de dosagem de NH_3 empregando o H_3BO_3 como absorvente e como indicador para titulação, o vermelho do Congo.

Baseando-se no trabalho de WINCKLER, STOVER e SANDIN (42) desenvolveram um método de dosagem do N usando como indicador um sistema de azul de metileno e vermelho de metila. O método foi adaptado às técnicas de semi-micro análise por WAGNER e MEEKER (52), ZUAZAGA e MA (56) introduziram o emprêgo do sistema de vermelho de metila e verde de bromocresol e por último CONWAY (6) empregou o indicador já misturado com a solução de ácido bórico. Outros absorventes têm sido usados e ùltimamente DOYLE e OMATO usaram uma solução de K_2HPO_4 em lugar do ácido bórico, para absorver o NH_3, com muito bons resultados (8). Da mesma maneira foi usado o $Ni(SO_4).(NH_4)_2SO_4.6H_2O$ por BLOM e SCHWARTZ (1).

Temos que nos deter agora entretanto, no exame de outro tipo de técnica que vem se desenvolvendo desde os trabalhos de CONWAY em 1933. Neste ano CONWAY e BYRNE (7) publicaram um método que consistia na difusão do NH_3, deslocado por K_2CO_3 para uma solução diluida de H_2SO_4. Usavam como câmara de difusão, um aparelho cilíndrico chato (no formato de um pequeno cristalizador), constituido de dois compartimentos concêntricos, sendo a parede do interior mais baixa, o que permitia a difusão do NH_3, depois de ajustada a tampa.

No compartimento externo coloca-se o material a dosar, no interno coloca-se a solução diluida de H_2SO_4. Adiciona-se então ao compartimento externo a solução de K_2CO_3 para deslocar o NH_3 e ajusta-se a tampa deixando em repouso no mínimo 2 horas.

Os autores verificaram que em 1½ horas 99,5% do NH_3 já estaria absorvido na solução de H_2SO_4. Aliás CONWAY estabeleceu tabelas com as quais é possível fazer boas dosagens com tempos de difusão bem menores (5).

O método foi aperfeiçoado por TOMPKINS e KIRK (45) realizando a difusão no próprio frasco de digestão, que consiste de dois bulbos um menor (de digestão) e outro maior (de difusão), separados por um leve estrangulamento. O frasco é dotado de uma rolha esmerilhada especial, permitindo o estabelecimento de vácuo, à qual se liga uma

haste a cuja ponta está um reservatório onde se coloca a solução de H_2SO_4. Quando se adapta a rolha esmerilhada, êste reservatório fica suspenso na parte central do bulbo de difusão.

Para se realizar uma determinação procede-se da seguinte maneira:

Digere-se o material no bulbo de digestão. Coloca-se a solução absorvente no reservatório da haste, junta-se soda concentrada, cuidadosamente, para não misturar com o material digerido antes de se vedar a câmara de difusão, o que se faz com uma pequena torsão da rolha esmerilhada, depois de se fazer o vácuo. Em seguida, agita-se para fazer a soda agir sôbre o material digerido e deixa-se o NH_3 difundir por 2 horas no mínimo, titulando-se depois com microbureta. Uma boa técnica de trabalho com microburetas está exposta no livro de CONWAY (7).

Com uma rolha de borracha à qual se adapta uma haste com uma cubeta na extremidade e um tubo pequeno dotado de estrangulamento, podemos improvizar um aparelho dêstes, uma vez que não se deseje uma alta precisão (45). Foi o que fizemos em nosso laboratório obtendo resultados razoáveis, usando como absorvente a solução a 1% (vide solução no fim do texto) de H_3BO_3.

A técnica de difusão tem sido grandemente aperfeiçoada e atualmente os suécos estão conseguindo detectar com ela, nitrogênio na ordem de 0,005 microgramas (4).

Atualmente só as técnicas de espectrogramas eletrônicos, de HILLER, parecem poder detectar quantidades menores de N (13).

Deixando de lado estas técnicas de difusão, usadas sòmente em circunstâncias especiais em que se trabalha com amostras muito pequenas, da ordem de 0,1 mgr e até de 0,1 microgramа (laboratório Carlsberg), devemos tratar agora de outras que prescindem da fase de destilação.

Estas técnicas sacrificam a precisão em favor de razões práticas, podendo ser adaptadas a análises industriais e mesmo em pesquisas em que se não necessita de resultados tão acurados.

Trataremos em primeiro lugar da técnica de MARCALI e RIEMAN (27) que se baseia em uma observação de KOLTHOFF (22), segundo a qual o aldeido fórmico em presença de NH_3 dá origem a formação de hexametilenotetramina, sendo a reação imediata.

Em linhas gerais o método é o seguinte:

Toma-se o material kjeldalizado e no próprio frasco de digestão neutraliza-se o excesso de H_2SO_4 com soda 10 N, usando o vermelho de metila como indicador. Após a viragem do indicador, junta-se com a bureta, H_2SO_4 N até que êle volte à côr primitiva. Em seguida com soda 0,1N titula-se até a viragem do vermelho de metila e nota-se o resultado. Junta-se então a solução neutra de aldeido que forma a hexametilenotetramina.

$$2(NH_4)_2SO_4 + 6HCHO \longrightarrow (CH_2)_6N_4 + 6H_2O + 2H_2SO_4$$

O indicador volta à côr primitiva em virtude da presença do H_2SO_4 conforme a equação acima. Continua-se a titulação até o vermelho, juntam-se depois gotas de fenolftaleina e vai-se até a viragem dêste indicador, anotando-se também êste segundo resultado. O NH_3 é dado pela diferença entre a 1.ª e a 2.ª titulação.

Observou-se que nos casos em que as amostras continham fosfatos os resultados não eram bons, sendo então necessária uma modificação devida a MARCALI (26).

Cumpre observar que neste método deve-se usar como catalizador um sistema de K_2SO_4 e HgO tendo-se o cuidado de cindir os complexos amônio-mercúricos formados. Para isso MARCALI recomenda o uso de NaBr no lugar de tiossulfato. No caso de amostras contendo fosfatos, depois do NaBr junta-se cloreto de zirconila, que acarreta com todo o fosfato sob a forma de fosfato de zirconila, dilui-se a solução em um frasco volumétrico, filtra-se e dosa-se o N numa parte alíquota pela técnica geral de MARCALI e RIEMAN.

Outra técnica que dispensa também a destilação foi a desenvolvida por HAANAPPEL (11) que se baseia na oxidação do NH_3 formado durante a digestão pelo Br.

$$2NH_3 + \underset{\text{(hipobromito)}}{\overset{3Br_2}{\longrightarrow}} 6HBr + N_2$$

deslocamento do I de um iodeto, pelo Br e titulação pelo tiossulfato.

Damos em seguida um resumo da técnica recomendada:

Toma-se o material kjeldalizado, dilui-se para 50ml, junta-se 20ml de solução a 4% de borax para tamponar e depois 25ml de solução 0,1N de hipobromito. Adiciona-se 10ml de solução N de KI e 5ml de HCl 4N. O iodo liberado é titulado com tiossulfato. Outra técnica que cada vez mais sendo mais empregada é a da nesslerização direta do material digerido, si bem que variadas causas de êrro possam influir nos resultados obtidos com êste método. Em todo caso com material bastante conhecido e com uma escolha conveniente de uma técnica padrão (desde a digestão até a escolha do filtro) o método pode ser empregado com exito.

A principal causa dêstes erros está na formação de aminas (9) segundo a opinião de KIRK (16). É interessante para quem pretende trabalhar no método a leitura do artigo de LEITCH (24), sôbre estas causas de êrro.

Em resumo o método é bom, mas requer uma demorada fase de padronização e escolha de técnica para cada caso.

Resta-nos tratar da determinação do NH_3 distilado e absorvido em soluções ácidas. Já vimos que no método de VARRENTRAP (12) o NH_3 era determinado sob a forma de cloro-platinato. VILLIERS (51) determinou-o gravimètricamente após cuidadosa secagem do cloreto de amônio, resultante da absorção em HCl.

Êstes métodos, entretanto, apesar de muita precisão são pouco práticos. Desde os primeiros tempos usou-se a determinação por acidi-

metria (como foi introduzido por PELIZOT (12) dosando-se com soda padrão o excesso de um volume determinado de ácido sôbre o NH_3 absorvido. O indicador usado deve ter viragem em pH ácido porque sendo o NH_4Cl um sal ácido a neutralização se faz em pH um pouco abaixo de 7. O indicador adotado foi o vermelho de metila. Mais tarde com o aparecimento da absorção com H_3BO_3 começou a ser usada a mistura de vermelho de metila e azul de metileno (6) até que foi definitivamente adotado o indicador vermelho de metila-verde de bromocresol (56).

Além da titulação por simples acidimetria, a primitiva técnica de iodometria recomendada por KJELDAHL (48) é também bastante usada e tem uma boa precisão. Dos trabalhos que lemos a respeito desta técnica nos pareceu mais ilustrativo o de TEORELL (44) que além de uma resenha histórica apresenta um extenso estudo experimental. Em linhas gerais o método baseia-se na oxidação do NH_3 pelo Br (hipobromito), deslocamento do I pelo Br, de um volume determinado de uma solução de iodeto e determinação dêste iodo deslocado, pelo tiossulfato.

Esta técnica pode ser empregada com ótimos resultados segundo os autores que com ela trabalharam.

Temos ainda por fim as técnicas colorimétrica como as do fenato de Na (47) de VAN SLYKE e HILLER, as de BORSOOK (2) baseada na reação do hipobromito com o NH_3 e o ultramicrométodo de KIRK (19), adaptando um tubo colorimétrico capilar ao espectrofotômetro de BECKMAN.

Por último podemos falar ainda na técnica de TAYLOR (43) que consiste na determinação pelo potenciômetro, do pH em que fica a solução de H_3BO_3 depois da absorção do NH_3.

A técnica que usamos como rotina, apezar de não ser tão precisa como as de difusão, é suficientemente boa para ser adotada em dosagens do N para pesquisas biológicas. Por êste motivo damos a descrição mais detalhada do método com o qual temos obtido resultados satisfatórios, em cêrca de 500 análises realizadas.

Trabalhamos em geral com amostras contendo de 0,14 a 0,70 mgr de N obtendo um desvio padrão igual a 0,0007 mgr, com erros portanto que vão de 0,1 a 0,5%.

A grande maioria destas dosagens foi feita em homogenizado de fígado de rato. Ora eram homogenizados totais diluidos, contendo 4mg do material original por ml, ora resíduos de diferentes técnicas de extração a partir de 100mg do material. Técnicas estas levadas a efeito pelo Dr. GILBERTO G. VILLELA (50). Outros materiais com que trabalhamos (ácidos nucleicos, caseina, sôro, etc.) não apresentaram dificuldades dando sempre bons resultados. Sòmente nos casos de N em anél a técnica de rotina não dava resultados aceitáveis, mas isto, como já dissemos será objeto de um outro trabalho.*

* Vide nota no rodapé da pag. 4.

Descrição da técnica seguida:

Toma-se o material no frasco de KJELDAHL, em amostras de 0,14 a 0,70 mgr e volume não maior que 4 ml, junta-se 1 ml de H_2SO_4 concentrado e 5 gotas da solução de catalizador. Deixa-se eliminar tôda a água e então aumenta-se a intensidade da chama para a kjeldalização que se faz ràpidamente na maioria dos casos. Depois que o material está claro, deixa-se ainda sob fogo direto e intenso durante 20 a 30 minutos.

Deixa-se esfriar, dilui-se em alguns mililitros de água distilada e adapta-se o frasco ao aparelho de destilação (nossos frascos de digestão são adaptáveis diretamente ao distilador, diminuindo desta maneira as perdas na transferência do material, sendo ainda tôdas as conexões do aparelho, de vidro esmerilhado). Adaptado o frasco ao aparelho, liga-se a água ao refrigerante e adapta-se à outra extremidade o tubo de condensação que mergulha na solução absorvente de H_3BO_3 (5ml) em um balão erlenmeyer.

Junta-se então cêrca de 4ml de soda 10N pelo tubo de segurança, passando-se depois 1ml de água destilada pelo mesmo. Em seguida liga-se o compressor a 40 libras de pressão, ligando o ar ao tubo de segurança depois de lavá-lo em solução a 25% de H_2SO_4 para eliminar o NH_3 atmosférico. Acendemos em seguida o bico de Bunsen, e destilamos então o NH_3 com borbulhamento de ar.

O aquecimento só se faz para apressar o processo pois a simples aeração é suficiente, se bem que demore 1 hora ou mais (21). Com o duplo efeito do borbulhamento e aquecimento podemos considerar completa a destilação em 30 minutos se bem que entre 5 e 10 minutos já 90% se tenha destilado.

A titulação é feita com bureta graduada em décimo de ml, dando o centésimo nas pequenas graduações, com HCl 0,01N; e deve ser feita imediatamente após a destilação pois com a demora há uma pequena perda que se estabiliza depois de 1 hora.

Diferentes destilações e titulações devem-se fazer com um padrão de sulfato de amônio, até se acertar bem a viragem e a técnica de destilação (tempo, intensidade da chama e borbulhamento). Para os casos a que já nos referimos de substâncias contendo nitrogênio em anel devemos usar além do catalizador de Se, um pouco de HgO que forme os compostos amônio-mercúricos, com o NH_3 previndo assim as perdas por formação de N^2 e de aminas.

Nestes casos temos que usar não a soda 10N para deslocar o NH_3, mas contendo 5% de tiossulfato ou Na_2S. Na maioria dos casos obtivemos sucesso juntando 0,5ml da solução de HgO.

O desvio padrão do método foi calculado com a dosagem de uma mesma amostra, com os seguintes resultados:

	d	d^2
2.240 ml	— 0.002 ml	— 0.000004
2.210 "	— 0.028 "	— 0.000784
2.250 "	+ 0.012 "	— 0.000144
2.250 "	+ 0.012 "	— 0.000144
2.240 "	— 0.002 "	— 0.000004
m = 2.238		0.001080

desvio padrão =

$$\sqrt{\frac{0.001080}{4}} = 0.0051 \text{ ml de HCl } 0{,}01N$$

$$0.0051 \text{ ml} \times 0{,}14 \cong 0.0007 \text{ mg}$$

Catalizadores

1) $CuSO_4$ — 22g
   K_2SO_4 — 7g
   SeO_2 — 1g

Tomar 2gr/250ml com 5ml de H_2SO_4 concentrado.

2) *Catalizador para N em anel*

0.03gr de HgO/100ml com 3ml H_2SO_4 concentrado.

Soluções

1) Solução de NaOH 10N
2) " " " 10N com 5% de tiossulfato
3) " " HCl 0.01N

4) *Solução de ácido bórico* (segundo Conway)

Ácido bórico (C.P.) — 10g
Álcool — 200ml
Água — 700ml
Indicador — 10ml

Alcalinizar com gotas de soda até "light red" (roseo). Completar para 1000ml.

5) *Indicador*

Verde de bromocresol — 0.033%
Vermelho de metila — 0.066%
Ambos em álcool.

Conclusões.

É desnecessário falar na importância da dosagem do N em pesquisas biológicas e bioquímicas. O método clássico de DUMAS exige sempre técnicas e aparelhagem muito delicadas, além de ser demorado. Daí o empenho no desenvolvimento do método de KJELDAHL com técnicas cada vez mais precisas.

De um modo geral, as dificuldades do método de KJELDAHL estão localizadas na digestão dos diferentes materiais e principalmente nos heterocíclicos (ring N).

Agradecimento.

Agradecemos ao Prof. GILBERTO VILLELA as sugestões apresentadas e as facilidades oferecidas na realização dêste trabalho e ao Dr. JUVENAL DE ALMEIDA FILHO e pela leitura do original.

Sumário.

1. É feita uma revisão do método de KJELDAHL até 1950.

2. É dada a descrição de um método, trabalhando com amostras de material biológico contendo 0,14 a 0,70 mg de N. O desvio padrão encontrado foi de 0,0007 mg.

Summary.

1. The determination of organic nitrogen by the KJELDAHL method is reviewed up to 1950.

2. A method is described in which samples of biological material containing from 0.14 to 0.70 mg. N were employed. The accuracy of the obtained results was evaluated and their standard deviation was found to be 0.0007 mg.

Research is beeing carried out on kjeldahlization curves of different materials which is the object of a further paper.

BIBLIOGRAFIA

1 — BLOM, T. e SCHWARTZ, B. — Acta Chem. Scand. *3*,1439,1949.
2 — BORSOOK, H. — J. Biol. Chem. *110*,481,1935.
3 — BRADSTREET, R. B. — Ind. Eng. Chem. (anal. ed.) — *12*,657,1940.
4 — BRÜEL, D., HALTER, H., LINDERSTROM-LANG, K. e ROZITS, K. — C. R. Trav. Lab. Carlsberg Ser. Chim. *25*,289,1946.
5 — CONWAY, E. J. — Microdiffusion Analysis and Error, Crosby Lockwood & Sons, Ltd. — London, 1947.
6 — CONWAY, E. — Biochem. J. *36*,655,1942.
7 — CONWAY, E. and BYRNE, A. — Biochem. J. *27*,419,1933.
8 — DOYLE, W. L. and OMOTO, J. H. — Anal. Chem. *22*,603,1950.
9 — GORTNER, R. A. e HOFFMAN, W. F. — J. Biol. Chem. *70*,457,1926.

10 — GUNNING, J. W. — Zeit. Anal. Chem. *28*,188,1889.
11 — HAANAPPEL, TH. A. G. — Pharm. Weekblad. *75*,570,1938.
12 — HEPBURN, J. S. — J. Frank. Inst. *166*,81,1908.
13 — HILLER, J. — Phys. Rev. *64*,318,1943.
14 — ILLARINOW, W. W. e SOLOVJENA, N. A. — Zeit Ana. Chem. *100*,328,1935.
15 — KAHANE, E. e CARRERO, J. G. — An. Soc. Espan. Fis. Quim. *33*,864,1935.
16 — KIRK, P. — Advances in Protein Chemistry, vol. IlI, pg. 146 (1947).
17 — KIRK, P. — Ind. Eng. Chem. (anal. ed.) — *8*,223,1936.
18 — KIRK, P. — Anal. Chem. *22*,354,1950.
19 — KIRK, P., ROSENFELS, R. S. e HANAHAN, D. F. — Anal. Chem. *19*,355,1947.
20 — KJELDAHL, J. — Zeit. Anal. Chem. *22*,336,1883.
21 — KOLER, P. A. e GRAVES, S. S. — J. Am. Chem. Soc. *35*,1594,1913.
22 — KOLTHOFF, I. M. — Pharm. Weekblad — *58*,1463,1921.
23 — LAURO, M. F. — Ind. Eng. Chem. (anal. Ed.) — Oil and Soaps, *10*,149,1933.
24 — LEICHT, J. L. — J. Frank. Inst. *245*,355,1948.
25 — LOCKET, G. L. — School Scien. Rev. *98*,60,1944.
26 — MARCALI, K. — Ind. Eng. Chem. (anal. ed.) — *20*,381,1948.
27 — MARCALI, K. e RIEMAN, W. — Ind. Eng. Chem. (anal. ed.) — *18*,709,1946.
28 — MICHAELIS, A. — Zeit. Chem., *6*,460,1870.
29 — MILBAUER, J. — Chem. Abzor. 11,193,208,233,1936 e *12*,17,1937 e *13*,25,1938.
30 — NEEDHAM, J. e BOELL, E. J. — Biochem. J. *33*,149,1939.
31 — NEUMAN, R. — Chem. Zgt. — *36*,613,1912.
32 — OSBORN, R. A. e KRASNITZ, A. — J. Ass. Off. Agr. Chem. *17*,339,1934.
33 — PARNAS, J. K. — Acta Biol. Exptl. *11*,107,1937.
34 — PATEL, S. M. e SREENIVASAN, A. — Ind. Eng. Chem. (anal. ed.), *20*,63,1948.
35 — PETERS, J. P. e VAN SLYKE, D. D. — Quantitative Clinical Chemical Methods, pg. 519, 1932.
36 — QUARTAROLI, A. — Ann. Fac. Agr. Univ. Pisa, *9*,90,1948.
37 — ROSENTHALER, L. — M. H. Lebensm Hyg. *37*,215,1946.
38 — SANDSTEDT, R. M. — Cer. Chem. *9*,156,1932.
39 — SCAGLIARINI, S. e TORELLI, G. — Gazz. Chim. Ital. *51*, ii 277, 1921.
40 — SREENIVASAN, A. — Ind. J. Agric. Sc. *4*,546,1934.
41 — SREENIVASAN, A. e SADAVISAN, V. — Ind. Eng. Chem. (anal. ed.), *11*,314,1939.
42 — STOVER, N. M. e SANDIN, R. B. — Ind. Eng. Chem. (anal. ed.), *3*,240,1931.
43 — TAYLOR, W. M. H. e SMITH, G. F. — Ind. Eng. Chem. *14*,437,1942.
44 — TEORELL, T. — Acta Med. Scand. *68*,305,1928.
45 — TEMPKINS, E. R. e KIRK, P. L. — J. Biol. Chem. *142*,477,1942.
46 — VAN SLYKE, D. D. et al. — J. Biol. Chem. *146*,137,1942.
47 — VAN SLYKE, D. D. e HILLER, A. — J. Biol. Chem. *102*,499,1933.
48 — VEIBEL, ST. — Chem. Educ. *26*,459,1949.
49 — VICKERY, H. B. — J. Ass. Off. Agr. Chem. *29*,358,1946.
50 — VILLELA, G. G. —
Ácidos Nucleicos do Figado. Em Algumas Condições Experimentais. Tese apresentada para concorrer à Catedra de Química Fisiológica da Faculdade de Medicina da Universidade do Brasil, 1951.
51 — VILLIERS, A. e MOREAU-TALON, A. — Bull. Soc. Chim. *23*,308,1918.
52 — WAGNER, E. C. e MEEKER, W. — Ind. Eng. Chem. *5*,396,1933.
53 — WICKS, L. E. e FIRMINGER, H. I. — Ind. Eng. Chem. (anal. ed.), *14*,760,1942.
54 — WILFARTH, H. — Chem. Zeit. *16*,17,1885.
55 — WINCKLER, L. W. — Zeit. Angew. Chem. *26*,231.
56 — ZUAZAGA, G. e MA, T. S. — Ind. Eng. Chem. *14*,280,1942.

Crustacea Amphipoda do Rio de Janeiro

por

Lejeune P. H. de Oliveira

(com 27 estampas)

Na presente publicação estudamos algumas das especies de *Amphipoda Gammaridea* existentes na coleção da Estação de Hidrobiologia, cujo material foi capturado em numerosas excursões quer sejam na Baía de Guanabara, quer sejam em águas doces, salobras ou marítimas do Distrito Federal e Estado do Rio.

O gênero *Elasmopus* já fez parte de uma publicação entregue ao Boletim do Instituto Paulista de Oceanografia em 1951/1952, tomo II, fasc. 2.

NOTICIA HISTORICA

Na antiguidade Aristoteles (385-322 A.C.) referia aos anfipodes no livro IV capítulo 2 e no livro IV capítulo 10, quando tratava do sono dos peixes e dos outros animais que não possuem pestana nem palpebra, dizendo que numerosas pulgas da praia caiam sôbre estes e os devoravam; Gerstaecker reconheceu na passagem do capítulo 2 que o sábio grego referia-se ao *Gammarus locusta*.

Caius Plinius Secundus (79-23 A.C.) tambem referiu no seu librii xxxvii aos mesmos animais tratados por Aristoteles.

Segue-se a Idade Média sem nada relatar destes crustaceos, e depois destas 2 referencias só vamos encontrar na literatura os anfípodos 15 séculos depois, na Idade Moderna com Pierre Bellon em 1553 depois de Cristo no livro 2 do *De Aquatilibus* referindo às *Gambarella* dos romanos. A primeira figura de Amphipoda somente apareceu com Guillaume Rondelet em 1554 este autor dá *Gammaridae* com a face de um homem caricaturado ou melhor com a cara de um macaco; as placas laterais os pereiopodos deixam duvidas entre os generos *Gammarus* e *Orchestia* para este desenho. Konrad Gessner em 1558 fala do *Pediculus marinus* de Rondelet, fala do *Pulex marina* e do *Asilus* todos como *Insecta marina*. Seguem-se outros trabalhos: de Matthiolus 1583, de Aldrovandi 1606, de Mouffet 1634 até ao de Jacob Sachs em 1665: *Gammarorum*. Já nesta data os crustáceos eram separados dos insetos, os anfípodos são referidos com nomes franco germanicos anti-

gos. Segue MARTENS em 1675 que descreve o Kleiner Garnell do Sptizberg dá desenhos na sua tabela P, figura C do *Gammarus locusta* assim como descreve o *Cyamus mysticeti*. Em 1710 RAY publica a *Historia Insetorum* com varias especies a *Pulex marinus cornutus* e a *Pulex marinus belloni* e a *Pulex fluviatilis*. Em 1728 FRISH, na "Allerley" Insecten in Teutschland já dá uma figura bem perfeita do *Gammarus pulex*. SEBA em 1734 no seu *Thesauri* com descrições e figuras de anfipodas e refere aos *Pediculi ceti* com figuras na pl. 90, fig. 5, E, F, G, H, do *Cyamus miceti*.

Entramos agora no periodo linneano — as varias publicações de LINNEO: — de 1745, 1746, sua *Fauna Suecia* em 1749 o *Systema Natural* em 1748, 1751, 1754 e 1758, que é o ponto de partida para a atual nomenclatura zoologica, a 10.ª edição do *Systema Naturae*. Os anfipodos brasileiros foram totalmente desconhecidos por LINNEAUS mesmo nas suas publicações de 1760, 1761 e 1767. *Fabricius* em 1775 separou de genero Cancer em um genero *Gammarus* que foi 1806 passado para familia das Crevettines ou Gammarinae por Latreille.

O nome Amphipoda vem de LATREILLE, 1817, contudo o genero *Cyamus* não era considerado *Amphipoda*, e em 1829 foi colocado em uma ordem *Laemodipoda*. Foi KRÖYER em 1843 quem reuniu os Laemodipoda aos *Amphipoda* havendo então 3 sub-ordens: — *Gammaridea, Hyperiidea* e *Laemodipoda*, hoje tendo mais uma ordem a: — *Ingolfielliaea*. A ordem *Laemodipoda* foi desdobrada com novas diagnosses em 1852 por DANA em *Hyperiidea* e *Caprellidea;* desaparecendo hoje o nome *Laemodipoda*. Ha sempre hiatos no estudo dos crustáceos *Amphipoda* quando referem-se ao litoral do Brasil. As informações que pudemos obter da literatura foram as seguintes:

Em 1840, MILNE EDWARDS na Histoire Naturelle des Crustacés, assinalava para a America do Sul 3 especies: *Orchestia chilensis, Ampithoe gaudichaudi,* aquele proviniente do Chile e este achado "no mar de perto do Brasil"; *Gammarus ornatus* da America do Sul.

Os *Amphipoda* da viagem do United States Exploring Expedition, de 1851, foram estudados por DANA, que assinalou para o Brasil as seguintes espécies: — colecionadas em Dezembro de 1838: *Oschestia* (*Talitrus*) *brasiliensis* DANA, dragado na bacia do Rio de Janeiro.

Stenothoë validus Dana, do Rio de Janeiro.
Lyssianassa natura Dana, do Rio de Janeiro.
Lyssianassa brasiliensis Dana, do Rio de Janeiro, na praia de areia próxima ao Pão de Assucar.
Gammarella brasiliensis Dana, no Rio de Janeiro.
Moera setipes Dana, nas praias de areia do Rio de Janeiro, e nas algas próximo ao forte da Praia Grande, em 1851.
Ampithoe filicornis Dana, do Rio de Janeiro.
Ampithoe brasiliensis Dana, do Rio de Janeiro.
Cratophium validum Dana, dragado na Baia do Rio de Janeiro.
Dercothoe hirsuticornis Dana, da Ilha das Enxadas, da Baia de Guanabara, achado entre as *Serpula* da praia.

Pyctylus brasiliensis Dana, achado na ancora que foi içada quando o navio estava ancorado no Rio de Janeiro.
Platophium brasiliense Dana, dragado na Baia de Guanabara.
Corophium quadriceps Dana, na baia da cidade do Rio de Janeiro.
Allorchestes media Dana, dragado na baia do Rio de Janeiro.
Allorchestes graminea Dana, do Rio de Janeiro.

Nenhuma adição foi feita até que C. Spence Bate revendo os Amphipoda do British Museum, e os do Museu de Paris, os redescreveu.

O Catalogue Of The Specimens Of Amphipodous Crustacea in the Collection of the British Museum, London — 1862 contem estes crustáceos com as seguintes denominações:

Orchestia platensis pag. 19.
Allorchestes gramineus pag. 46.
Allorchestes medius pag. 46.
Stenothoe validus pag. 60.
Lysianassa nasuta pag. 67.
Lysianassa brasiliensis pag. 70.
Gammarella brasiliensis pag. 180.
Amphithoe gaudichaudii pag. 244.
Amphithoe brasiliensis pag. 248.
Amphitoe filicornis pag. 249.
Podocerus validus pag. 253.
Dercothoe (*Cerapus*) *hirsuticornis* pag. 260.
Cyrtophium brasiliense pag. 274.
Corophium quadriceps pag. 283.
Cerapus brasiliensis pag. 267.

Fritz Mueller iniciou seus trabalhos sôbre *Amphipoda* em 1846 com a descrição da *Synurella ambulans* capturadas em aguas revestidas de um tapete verde de plantinhas *Lemna* nas proximidades de Berlin e Greifwald. Nesta ocasião esta sua nova especie era colocada no genero *Gammarus*.

Em 1848 estudou as especies *Orchestia euchore* e *Orchestia gryphus* do Mar Baltico, hoje uma é a *O. gammarellus* e a outra passou para o genero *Talorchestia*. No Brasil achou uma nova especie a *Talorchestia darwini,* em 1864, vivendo proximo as praias na terra dos buracos dos carangueijos chama-marés do genero *Uca* e dos carangueijos de agua pouco salina dos generos *Sesarma* e *Cyclograpsus*. Até hoje a unica redescrição deste animal foi feita por Stebbing, em 1906, apenas baseando-se nos desenhos das fig. 7-9 da publicação de Fritz Mueller, o primeiro naturalista que estudou crustáceos no Museu Nacional Brasileiro. Continuando a ler o seu livro "Fuer Darwin", na pag. 54 encontramos a descrição de *Orchestia tucurauna* e *Orchestia tucuratinga* de Santa Catarina. Em Desterro, hoje Florianopolis, no canal entre a Ilha de Santa Catarina e o continente, neste mesmo ano descreveu o anfípodo *Batea,* novo genero, de nova familia, com a nova

especie *Batea catharinensis*. Acrescentemos que mais recentemente em 1925, CLARENCE SHOEMAKER achou a segunda espécie do genero *Batea* no Oceano Pacifico, no golfo de California.

Depois apareceram as monografias classicas sobre *Amphipoda:* Em primeiro lugar a de STEBBING sobre os *Amphipoda* do *Challenger* de 1888 a dos *Gammarinae* as de Della Valle de 1893. A historia bibliografica de STEBBING no Chalenger é admiravel e serve não só para *Amphipoda* como para ilustrar qualquer aula de nomenclatura zoologica pois tem toda bibliografia desde o tempo de ARISTOTELES. A lista bibliográfica até 1887 acha-se em um volume com 600 paginas (volume XXIX do Challenger). Para os detalhes anatomicos a monografia de Della Valle é otima, mas para a sistematica não é bom se fiar muito nela, porque este autor não foi sistematista muito criterioso em uma diagnose muito geral colocava numerosos seres em sinonimia por exemplo colocava o *Platophium brasiliensis* em sinonimia com o *Podocerus cheloniae, Cyrtophium darwini, C. laeve;* reduzia todo o genero *Ampithoe* somente a 8 especies, colocando o nosso *Ampithoe* brasiliensis como sinonimo de *Amphithoe filicornis* e de mais 18 outras especies como: *A. japonica, A. longimana, A. quadrimana, A. femorata, A. vaillanti* etc. E isto sem nunca ter tido um exemplar de *A. filicornis* para examinar.

Até hoje a obra prima sobre *Gammaridea* é a revisão completa de toda a ordem pelo Rev. T. R. R. Stebbing, M. A., F. R. S., F. L. S., F. Z. S., publicada no "Das Tierreich, 1906. 21 ten. Lieferung." STEBBING foi muito prático e dividiu diretamente de sub-ordem *Gammaridae* á familias, abandonado as antigas divisões em super-familias, em sub-familias acabando com as sub-divisões *Vagantia, Saltatoria, Natatoria, Domicola, Nidifica, Tubifica, Genuina, Corophina,* e numerosas outras por nunca corresponder exatamente as diagnoses gerais com as familias que ali eram colocadas forçadamente. É esta a celebre chave de Stebbing que se segue até hoje em dia.

Um apanhado gral sobre a ordem existe na Zoologia de RAY LAN hester por CALMAN, em 1909; e também em 1927 na zoologia de Kükental por REIBISCH.

A monografia de CHEVREU, Amphipoda, da Faune de France apareceu em 1940.

Em 1916 CARLOS MOREIRA, Diretor do Instituto Biologico de Defesa Agricola capturou alguns Anfípodos em Copacabana e os enviou para WALKER, que os determinou como *Paratylus minikoi;* em 1925 WALDO SCHIMITT esteve nas ilhas de Paquetá e de S. Sebastião no litoral de S. Paulo onde capturou mais exemplares deste anfípodo; SCHOEMAKER em 1932 estudando os anfípodos de Paquetá e de Copacabana os classificou como *Nototropsis minikoi,* e os encontrou tambem na Florida e outros locais dos Estados Unidos. SHOEMAKER em 1926 estudou a familia *Bateidae,* e deu uma descrição completa da *Batea catharinensis* FRITZ MUELLER (Art. 25, p. 2-9; fig. 1-4), encontrando-a em Chesapeake Bay, na Florida, em Barbados; em 1930 comentou SHOEMAKER em 1930, que FRITZ MUELLER tinha achado *Orchestia darwini* nos bura-

cos de carangueijos *Uca* longe do mar, e mesmo nos lugares sujos por fezes de cavalos e bois, no Brasil; e que ele analogamente achou na America do Norte, no lago Monroe desaguando no rio S. João a 120 milhas longe do mar (Florida) a 1.ª especie norte-americana apanhada longe da costa: a *Orchestia uhleri*. Em 1932 estudou a *Talorchestia fritzi* STEBBING 1903, e achou muita semelhança entre a *Talorchestia fritzi* e a de Costa Rica com a *Orchestia tucurauna* de Santa Catarina; viu que as figuras e descrições de FRITZ MULLER não chegam para discernir entre *Orchestia* e *Talorchestia;* tendo SHOEMAKER estudado o tipo da *Talorchestia fritzi* concluiu que não é sinonimo de *O. tucurauna* como pensou STEBBING, o autor da especie *Fritz*. Em 1941 foram examinados os anfípodos do Rio Grande do Sul, do rio Imbé e foram determinados como *Hyalella azteca* var. *inernis,* SMITH; mais tarde SHOEMAKER, não os estudando superficialmente, mas após dissecção completa, viu tratar-se de uma nova especie: *Hyalella curvispina,* tambem existente no Uruguay, e na lagôa de Tramandaí no Rio Grande do Sul; este material ele recebeu do limnologista HERAMN KLEEREKOPER quando este estava trabalhando nas lagôas do sul do Brasil, a cargo do Serviço de Caça e Pesca. A *Grandidierella magnae* foi encontrada no Brasil por SCHELLENBERG; em 1943, SCHOEMAKER achou-a no estomago de peixes da Florida juntamente com outro anfípodo *Corophium ellisi,* é importante isto, para que se esteja prevenido de uma possivel existencia do *Corophium ellisi* no Brasil; outra especie que era só dos mares articos e boreais e que veio até ao Golfo do Mexico foi a *Photis longicaudata,* verificada por SHOEMAKER, não poderá ela vir até ao Brasil? Este especialista do U. S. National Museum, em 1937, publicou seus estudos sobre o genero *Corophium* do litoral léste das Americas com as especies sendo as que mais nos interessam: — *Corophium rioplatense,* descrito por GIAMBIAGI, da Argentina em 1926; *Corophium acherusicum* COSTA, existente no Brasil; e o *Corophium bonelli* M. EDWARDS que foi capturado ao ENE do Rio de Janeiro, a 500 milhas da costa. PIRLOT em 1936 estudando os anfípodos da Siboga Expeditie encontrou a *Lyssianassa nasuta* que tinha sido descrita por DANA em 1851 no Rio de Janeiro e estudando-a modernamente colocou-a no genero *Shoemakerella,* sendo que a distribuição atual para esta especie dada por SHOEMAKER em 1948 é: Rio de Janeiro, Barbados, Porto Rico, Cuba e NE de Golfo do Mexico; é curioso anotar que a estação do navio *Albatroz* (Station 169, Lat. 21°57'N) onde foi capturada a *Shoemakerella nasuta* é no hemisferio norte muito correspondente com a latitude do Rio de Janeiro no hemisferio sul: lat. 22°41'-22°48'S.

Em 1932 sahiu publicada a obra: os resultados sobre os Amphipoda por K. H. BARNARD, volume V do Discovery Reports. Notemos que a coleção de anfípodos do *Discovery* entregue a BARNARD é a mais importante desde o tempo do U. S. Expedition em 1851, e do Challenger em 1873; ela tem 6600 anfípodos sendo que 4500 são *Gammaridea,* somente a familia *Lyssianassidae* está representada por 1100 especimes; atualmente é a mais completa e a mais rica coleção de uma região zoo-geográfica no hemisferio sul. BARNARD estudou principalmente a

fauna antartica e sub-antartica; dentre os *Gammaridae* trata de numerosas especies de Buenos Ayres e do Sul desta cidade como por exemplo as *Urothoe falcata,* a *Phoxocephalopsis zimmeri* que virão certamente interessar mais tarde ao brasileiro. A referencia dada para o *Orchestia platensis* era, mesmo até para 1932, somente o Rio da Plata e a costa da America do Norte, no continente americano; este autor observou que de fato os especimes adultos de *platensis* tem a palma assim como figurou CHILTON descreveu e desenhon STEBBING. BARNARD na Ilha da Ascensão encontrou o *Amphithoe brasiliensis* mas determinado com probabilidade (pois estava marcado com o ponto de interrogação) e diz que até aquela data (1932) esta especie não tinha ainda diagnose precisa; contudo como o exemplar que achou em Ascensão não tivesse todos os caracteres dados para a especie *rubricata* da ilha de Bermudas por KUNKEL em 1910, era mais provavel que fosse mesmo a *brasiliensis* descrita por DANA em 1851. Quanto à *Jassa pusilla* tambem não poude garantir uma determinação completa por não a ter ainda comparado com o material vindo dos mares articos. Encontrou o *Podocerus brasiliensis* na ilha de Falkland mas a identificação que faz ainda não poude ser segura por faltar uma bôa descrição desta especie brasileira, (o que aliás ocorre em varios grupos de invertebrados marinhos do Brasil).

Lembramos que seu volumoso Report em grande formato não trata somente da fauna antartica mas de numerosas especies que interessarão certamente ao Brasil com: especies cosmopolitas tais a *Leucothoe spinicarpa, Jassa falcata;* especies do Atlantico do lado africano; de sul da Africa até o Natal da Africa como o *Photis uncinata;* especies como a *Stenopleura atlantica* vivendo de 36° de latitude norte até 36 de latitude sul no Atlantico. Da familia *Lyssianassidae,* a primeira tratada neste Report estuda 19 generos 34 especies sendo 1 novo genero, 13 novas especies; no total estuda 179 generos e 326 especies, sendo novos 19 generos e 107 especies.

SCHELLENBERG estudou o material colhido em Pernambuco e Alagoas, pelo Dr. OTTO SCHUBART, da Divisão de Caça e Pesca do Ministério da Agricultura, publicando-os em 1938. Foram as 11 seguintes especies estudadas:

Familia ATYLIDAE
Amphilochus schubarti Schel. 1938
Leucothoe tridens recifens Schell.
Nototropis minikoi Walter

Familia GAMMARIDAE
Quadrivisio lutzi (Schoemaker)

Familia TALITRIDAE
Orchestoidea brasiliensis (Dana)
Talorchestia fritzi
Talorchestia fritzi Sch.
Orchestia platensis Kr.
Parhyale fasciger St.

Familia AORIDAE
Grandidierella bonnieri St.

Familia COROPHIDAE
Erichthonius brasiliensis Dana

Familia PODOCERIDAE
Podocerus brasiliensis (Dana).

Antes de iniciar a parte do trabalho com referencia as espécies do Rio de Janeiro, é necessario dar alguns dados gerais sobre estes animais. Sabe-se que a especie menor mede 1,5mm de comprimento e que a maior 140mm (a *Alicella gigantea* Chevreux); estes extremos não encontramos ainda na coleção da Estação de Hidrobiologia, nem no material que examinamos do litoral do Brasil proveniente do Museu Nacional.

Quanto a côr, não encontramos ainda espécies fosforecentes como os existentes em outros mares isto não sabemos ainda se será porque o numero de capturas foi particularmente pequeno, ou porque não temos feito sistematicamente dragagens noturnas mais profundas que a profundidade maxima da Baia do Rio de Janeiro, isto é, 55 metros.

Cremos que a côr de um *Gammaridae* não poderá ser tomada como característica para paradiagnose de especie, porque dentro de certos limites é variavel, havendo muito mimetismo com o substrato: assim o amphipodo *Moera setipes* que vive nas alfaces do mar, as verdissimas *Ulva lactuca* são sempre verdes, quando vivas, agora colocadas no fixador, passam a côr de camarão cozido, geralmente côr de roza, e depois guardados no alcool ficam inteiramente descorados esbranquiçados e quebradiços, aí o especialista não poderá reconhecer a côr senão por uma indicação de quem capturou a especie.

Encontramos, contudo, na Baia de Guanabara anfipodos de coloração muito bonita como o *Elasmopus brasiliensis* de côr amarela esverdeada transversalmente rajada de crême mais claro, assim como tambem o é sua cabeça; possue uma lista longitudinal e na parte dorsal do pereion manchas brancas. O pedunculo do 1.º par de antenas é vermelho o flagelo é dourado, olhos rosas e patas manchadas de violeta.

Outro exemplo muito comum é a *Orchestia platensis* sendo amarelada até acastanhada, quando vive na areia na mais pura, sendo mais clara e quando vive na linha do deixa, cheia de pedaços de madeira e de carvão atirados na praia tornando-se mais escura, muito castanha, as vezes salpicadas ou com riscos pequenos escuros. A côr dos olhos tambem é variavel na mesma especie encontrando-se olhos ou mais avermelhados ou mais acinzentados só vale citar a côr quando se cita o meio: o animal vivo no aquário ou em alcool. Mesmo neste poderá a tonalidade perder muito num aquário de azulejos brancos tudo tende a se descorar, num aquário de azulejos verdes ha frequentemente conservação por mais tempo da côr primitiva. Como exemplo: a *Autonoe*

sp. apanhada em cima de ascidias *Tethium plicatum,* é totalmente transparente, pouco antes de morrer vai ficando mais listrada e os riscos são mais acastanhados.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Clarence Shoemaker do U. S. National Museum o ter examinado nossas laminas do genero *Hyalella,* e ter colocado a nossa disposição os tipos de *Amphipoda* determinados por ele de: Columbia, S. Carolina, Suffield, Minesota, de Granta, do Mexico, de Cumbadialo, e da Lagoa dos Quadros. Agradecemos o Prof. Bellac do Musée Oceanographique de Monaco, a preciosa coleção de *Amphipoda* que foi determinada pelo Prof. Chevreux e pela qual nós podemos estudar este grupo de crustáceos antes de começar a classificar os animais da Baia de Guanabara. Sem este auxilio dos Museus dos Estados Unidos da America, e do Museu de Monaco não teriamos levado a efeito a presente publicação.

Ao Prof. Alceu Lemos de Castro agradecemos os especimes de *Amphipoda* do Museu Nacional.

TECNICA

O material mais frequente para estudo é o que vem guardado em alcool a 70°. Contudo procurando-se no livro de Lee "The Microtomist's Váde-mecum" vamos encontrar numerosas formulas de fixadores e tecnicas muito uteis, alem da fixação e conservação em alcool. Uma tecnica recomendada é a de Mayer, da Estação Zoologica de Napoles, a mistura picrica-nitrica, mas nos usamos como mistura picrica preferentemente o liquido de Bouin para agua do mar: no momento de emprego tomamos

formol a 25%	ãã
solução saturada de acido picrico	
acido acetico a 5%	
que é o Bouin duplicado	

Tomamos o anfipodo em agua do mar e neste acrescentamos igual volume de Bouin — duplicado, que ficará então diluido da metade isto é liquido de Bouin comum feito com a agua da mesma salinidade do local.

Deixamos nele algumas horas, no maximo 2 dias e depois passamos para o alcool a 70°.

Alem desta ha numerosas formulas que podem ser consultadas nos tratados de tecnicas, mas que não usamos frequentemente: o material poderá ser fixado em sublimado, ou mesmo em sublimado alcool. A tecnica de *Giesbrecht* para estomatópodos é muito bôa: colocar o material durante 5 minutos em formol quente a 40°-50°C, depois lavar na agua do mar, colocar 2 horas em 5 volumes de formol e 5 volumes de agua do mar conservando depois em alcool a 70°C.

Lembramos que o material não poderá ser guardado em formol que alterará a estrutura quitinosa.

A tecnica mais simples é a seguinte: com um microscopio binocular entomologico examina-se o animal olhando-se as varias partes o corpo, as patas, as antenas, o uropodo, o telson e depois deste animal quebra-se a armadura bucal que é dissecada abrindo-a em agua ou em potassa a 10%, depois monta-se extemporaniamente em meios glicerinados, ou então definitivamente em balsamo do Canadá. É importante o primeiro exame no animal inteiro por não alterar as peças.

Quando a especie é já conhecida e bem estudada consegue-se facilmente a determinação apenas por um exame á binocular. O material guardado em alcool a 70° poderá ser montado pelos mesmos processos usados em entomologia como por exemplo pelo metodo de Costa Lima. A montagem pelo metodo de Enecé, substituindo o balsamo de Canadá, tambem foi empregada com muito sucesso, e é particularmente util a beira-mar com muitos aquários que constantemente trazem um teor elevado de humidade no laboratorio, e em que a desidratação total é mais dificil, se não houver uma camara seca. Para estudo sistemático completo e descrição do material poder-se-á proceder assim, com material fixado:

Tomar o exemplar inteiro escolhido para estudo, desenha-lo com a camara clara, de corpo inteiro, (ou ter uma microfotografia de sua silhueta), em vista lateral. Mergulhar o animal em alcool-picrico que irá colori-lo de amarelo, ou antes te-lo fixado em um fixador picrico que o fixa e o colore, depois lava-lo em alcool. Desidratar, pela serie de alcois, xilol e balsamo ou então colocar o material em dissolvente de Enecé, durante 24 horas. No caso de se usar Enecê, no dia seguinte passar para a terebentina pura, pingar uma gota de terebentina em uma lamina e com 2 agulhas proceder a dissecação do animal — numerar 16 laminas, na lamina n.° 1 colocar a 1.ª antena; na n.° 2 colocar a 2.ª antena; na n.° 3 — o labio superior, labio inferior, mandibula e maxipodo, fechando-as todas com o balsamo; na 4.ª lamina ficará para o 1.° gnatopodo; a 5.ª para o 2.° gnatopodo tendo cada uma das do lado direito e esquerdo porque nem sempre são simetricas a 6.ª lamina levará o 1.° pereiopodo; a 7.ª o II; a 8.ª o III; a 9.ª o IV; e a 10.ª o ultimo par de pereiopodos. A lamina n.° 11 levará o 1.° uropodo a n.° 12 o 2.° uropodo, a lamina n.° 13 o 3.° uropodo. É importante os uropodos serem bem marcados, não sejam colocados na mesma lamina pois são muitas vezes confundidos nem sempre o 1.° é o maior, as vezes é justamente o menor, sempre para evitar confusão é bom tomar todas as precauções. Quanto ao telson é necessário um cuidado especial, ele deve ser visto por cima e não lateralmente, sua montagem melhor será dorso-ventral e não lateral. Na lamina n.° 15 colocam-se os pleopodos i, ii, iii mesmo lateralmente, a não ser o caso de alguma especie que o exija ser visto de frente e dos dois lados direito e esquerdo. Na lamina 16, se houver, colocam-se os ovos do exemplar se este fôr femea.

Com estes 16 preparados nós temos o animal pronto para um estudo sistemático, se quizermos desenhar, desenhamos peça por peça, em papeis separados e em tamanho maior, com detalhes para os varios articulos. Ests desenhos, então, é que irão corrigir o desenho ou retocar a microfotografia do animal feito em corpo inteiro. Procede-se de duas maneiras: por exemplo se o animal foi desenhado com objetiva 10, poder-se-á redesenhar nesta objetiva cada uma das patas e etc.

No desenho de corpo inteiro o que é dificil são as placas laterais, que muitas vezes são dificeis de se desenharem ou de microfotografarem. Geralmente basta para os detalhes um aumento correspondente á objetiva 40 vezes. O material seco guardado como se usa em entomologia em um tubo com naftalina e num alfinete dá muita nitidez as placas laterais, mas antes de estar todo ressecado.

A dissecação feita em *Amphipoda* de alguns milimetros é possivel com duas agulhas e com alguma habilidade manual, mas em animais menores como certos copépodos é impossivel e exigirá um micromanipulador para que em absoluto não se misture as peças (tomar a 3.ª pata pela 2.ª, ou outros enganos semelhantes), para que se faça tal serviço com rapidez e eficiencia. As vezes a perca de uma peça é verdadeiramente lastimavel, faltando o labio superior ou inferior, por exemplo não se poderá decidir entre as familias *Jassidae* e *Ampithoidae* com segurança se a forma do labio fôr o que servir de diagnose. O tempo requerido e o trabalho é grande, mas não ha outra solução para quem vai ver o animal pela primeira vez. As dificuldades em classificação de *Amphipoda* muitas vezes superam as dificuldades de classificação de outros crustáceos, ha uma vasta diversidade de formas dos apêndices e de seus detalhes dentro de uma pequena faixa de variação morfologica do corpo total do animal que deram como consequencia que muitos generos e familias, se acham diferenciados em caracteres que aparentemente são triviais para os não especialistas, limites muitas vezes dificeis serem definidos, mesmo pelos especialistas. Assim uma pequena mudança morfologica do dáctilo indicará muitas vezes o modo de viver: os cavadores, os que moram na areia os que vivem sobre algas, os que vivem em tubos, os que vivem em esponjas etc. e pequenas alterações na armadura bucal indicam modos muitos diversos de se alimentarem.

A classificação científica de um *Amphipoda* só é feita depois de serem conhecidos os detalhes de todos os apêndices, e de todos os articulos dos apêndices. Num grupo de *Amphipoda* o unico que leva a classificação segura é o exemplar que foi dissecado, os outros são identificados vistos externamente e ninguem pode assegurar com 100% de certeza que este não terá por acaso um palpo ou um dos articulos do maxilipodos de um feitio diverso do holótipo. Contudo quando a fauna de um local já foi determinada com rigor cientifico, para o material local, uma simples vista externa conduzirá rapidamente ao genero e á especie.

Exemplifiquemos: para a *Orchestia platensis,* que foi uma especie estudada por nós aqui na Baia de Guanabara, bastará apenas examinar

a mão do gnatopodo e conferir o com o desenho de uma outra *O. platensis,* que se terá certeza de ser tal especie mesmo sem se fazer uma diagnose e dissecção e estudo completo do especime.

É esta a utilidade das chaves locais para poder ter uma classificação rápida e que a diferencia das poucas Amphipodas aqui do Estado do Rio de Janeiro e Distrito Federal. Se tudo coincidir com a descrição, o que se vê rapidamente, estará seguramente determinada, mas se não, o problema tornar-se-á muito sério, porque já que estamos lidando com material marítimo, ter-se-á que se ver as de todo o mundo e de todos os mares, porque a distribuição destes animais é as vezes vastíssimas e muitas vezes totalmente inesperada, encontrando-se especies de regiões geograficas totalmente extranhas ao Brasil.

Nunca deve-se deixar de comparar as peças montadas em balsamos com peças em agua do local ou em potassa a 10%, não recobertas por laminula para que não se tenha uma impressão falsa de um apendice, achatado artificialmente.

Não esquecer nunca de numerar as laminas com um diamante (dureza 10) ou na falta deste uma pedra de carborundum ou corindon (Dureza 9) que risca o vidro (Dureza 6). E ao mesmo tempo de rotula-las; o rotulo enverniza-se ao balsamo, mas este a caindo, ainda está gravado o numero na lamina.

Técnica Biologica — As outras técnicas de estudo do material vivo são as da aquariotecnica: montar o aquário com a agua de mesmas condições físicas, químicas e biológicas do local em que foi achada a espécie: assim um *Amphipodo* de uma *Ascidia* apanhada em salinidade 7, de agua de pH 8,0, de arejamento de 7 partes por milhão de oxigenio, exigirá tambem um aquário controlado com estas condições, e morrerá em um aquário com uma agua mais salobra, com pH 7, com 5 por mil de sal e sem arejamento, i. é, com 2 partes por milhão de oxigenio Isto só se consegue n'uma Estação de Hidrobiologia instalada especialmente para esta finalidade, raramente a improvisação dando alguma coisa que se aproveite, como pode-se ver da literatura do grupo que biologicamente foi mais trabalhado ou em Monaco ou em Plymouth ou em Napoles, ou em Woods Hole onde ha os recursos para a captura do material e para a manutenção destes vivos.

Subordem *Gammaridea* Dana

Subtr. *Gammaridea* Dana 1852, vol. 14, p. 308.
Subtr. *Gammaridea* Dana 1853, vol. 13, p. 806.
Trib. *Gammaridae* Boeck 1861, vol. 8, p. 637.
Trib. *Gammarina* Stebbing 1888, vol. 29, p. 601.
Trib. *Gammaridea* Sars 1890, vol. 1, p. 21.
Subord. *Gammarini* Della Valle 1893, vol. 20, p. 297.
Leg. *Gammaridea* Stebbing, 1906, vol. 21, p. 5.

Definição

Cabeça não fundida com o 1.º segmento do pereon (ou o 2.º segmento torácico). Olhos geralmente compostos, mesmo quando externamente simples, mas algumas vezes reduzidos a simples manchas pigmentares, ou inteiramente ausentes; são em numero normal de dois, mas podem variar de 1, 3, 4 ou mesmo 6; a cornea de cada olho em alguns generos forma uma parte saliente em feitio de lente; (segundo HANSEN ha lobos articulados sem elementos visuais em *Ingolfiella*). I antena constituida por um pedunculo de 3 articulos e de um flagelo, com ou sem flagelo acessorio. II antena mais longa ou mais curta que a I antena, ou mesmo igual a esta; pedunculo aparentemente de 5 articulos, geralmente com processos conicos, glandulares, abrindo-se no 2.º articulo. Os articulos de uma ou de ambas as antenas do macho (ou do macho e da femea) levam algumas vezes ápices membranosos ou calceolos. Epistoma chato ou projetante. Labio superior com a margem distal da placa externa lisa ou variadamente bilobada (chamada por vários autores de processo mandibular) e muitas vezes tendo entre os dois um pequeno lobo interno. Mandibula normalmente composta de um articulo basal e de palpo de 3 articulos; a borda cortante é a parte incisiva, ha uma placa acessoria adjacente no lado interno e armada de uma carreira de espinhas (lacinia movel) entre a peça incisiva e o molar que está em um tuberculo proeminente — pars molaris; (cada uma destas formações podem se achar degradadas ou ausentes. I maxila com os 1.º e 3.º articulos com expansão, as laminas internas e externas, ou endo e exopoditos, que são margeadas por cerdas ou espinhos ou cilios, de vairos aspectos: furcados, serrados, lisos, penados, etc.; os 4.º e 5.º articulos formam o palpo; estas varias partes são passiveis de desaparecimentos em varios generos e especies. II maxila com os 1.º e 3.º articulo com expansão: as laminas internas e externas (endopodito e exopodito) que são de tamanho e forma variadas ausentes, são geralmente franjadas com cerdas ou setas ou espinulas. Maxilipodos de 2.º e 3.º articulos geralmente com expansões, sendo uma do basipodo e outra do isquiopodo; palpo de 2 a 4 articulos, de 4 articulos estes correspondem perfeitamente aos poditos: mero, carpo, propodo e dactilopodito. Pereon com 7 segmentos distintos, raramente reduzidos a 6 pela coalecencia dos dois ultimos. As patas do pereon são ultrapassadas na base pelas placas laterais; sabemos pois que o 1.º articulo, isto é a coxa, dos pereópodos é o que forma a placa lateral (placa coxal, placa epimerial).

As 4 primeiras placas laterais são geralmente maiores que as 3 que seguem, geralmente a 4.ª é a maior. Os 1.º e 2.º gnatopodos tem o 4.º articulo não terminado na extremidade do 5.º mas um pouco desviado e o 6.º a articulo geralmente mais ou menos expandido para formar o que alguns autores chamam de "mão". As vesiculas branquiais são geralmente ligadas ao 2.º gnatopodo e aos pereiopodos numeros 1.º até ao 4.º ou mesmo até ao 5.º, são ora vesiculas simples, ou torcidas ou lobadas, ou listradas; muito raramente tem vesiculas acessorias Pleon com 3 segmentos sempre distintos, ha 3 pleopodos que são quasi

sempre biramosos e de pedunculos muitas vezes com espinhas aos pares; seus ramos são multi-articulados, cada articulo com um par de cerdas plumosas o primeiro articulo do ramo interno tem muitas vezes na sua margem interna espinhas fendidas até ao apice. Os 4.º, 5.º e 6.º segmentos do pleon geralmente são distintos. Os ramos externos dos uropodos tem muitas vezes dois articulos. O 1.º uropodo nunca está ausente, é sempre biramoso; os 2.º e 3.º uropodos raramente são obsoletos, as vezes não tem ora o ramo interno ora o externo. Telson nunca ausente, algumas vezes dividido na base outras vezes não, e mostrando segundo as especies todas as proporções entre o dividido e o indiviso.

Macho com mão preensil, testiculo abrindo no 7.º pereiopodo.

Femea de ovario abrindo-se no 5.º pereiopodo, e tendo nos 2.º ao 5.º segmentos do pereon placas marsupiais recobertas de cerdas.

A estampa I contem os nomes que usamos em portuguez para classificação, o que se entende por gnatopodo quelado, ou sub-quelado, o que é um telson inteiro, chanfrado, emarginado e os varios nomes que damos para as armações de cerdas e espinhos.

A explicação das figuras desta estampa é a seguinte:

Gnatopodos:

1 — gnatopodo quelado;
2 — gnatopodo fracamente quelado;
3 — gnatopodo fortemente subquelado;
4 — gnatopodo fracamente sub-quelado;

Telson:

5 — telson inteiro;
6 — telson emarginado;
7 — telson chanfrado;
8 — telson fendido;

Labio inferior:

9 — labio inferior sem lobos internos;
10 — labio inferior com lobos internos lisos;
11 — labio inferior com lobos internos chanfrados.

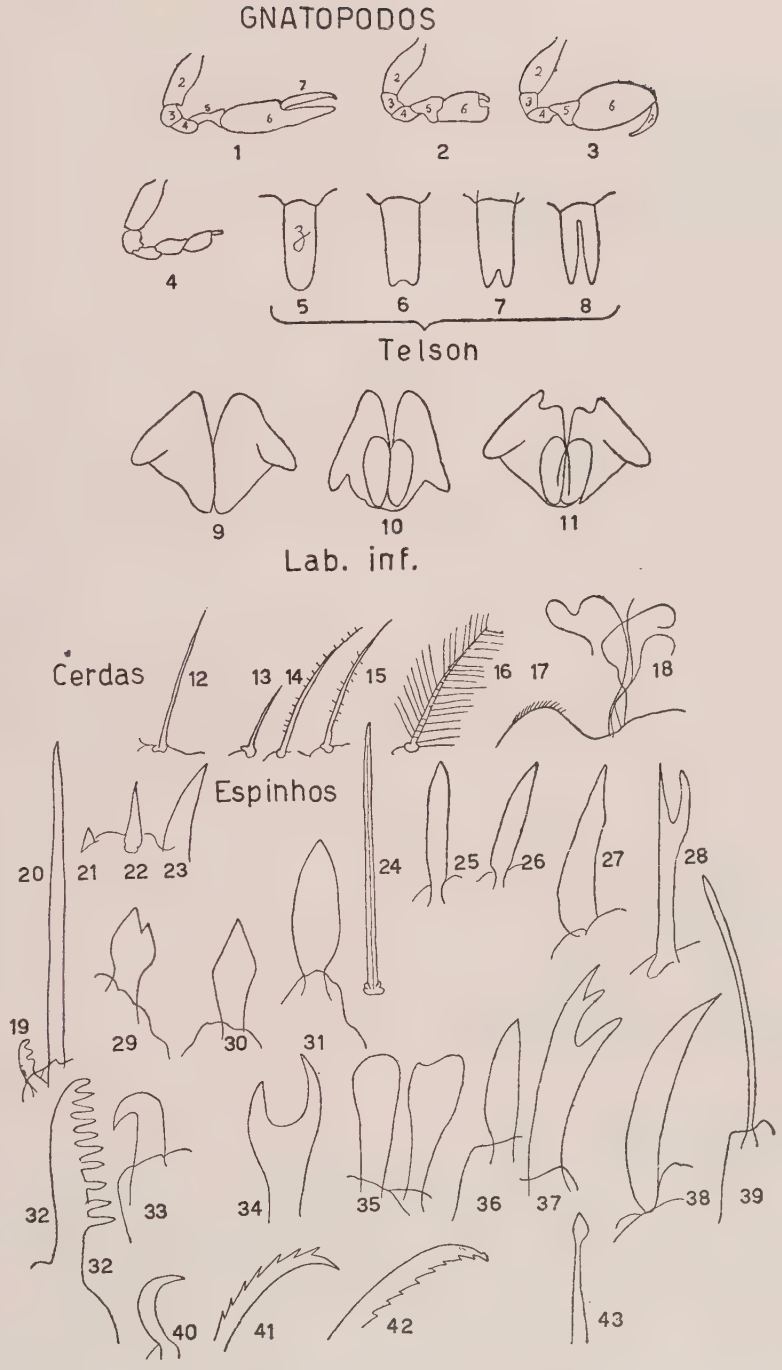
Cerdas:

12 — cerda simples longa;
13 — cerda simples curta;
14 — cerda pectinada (unipectinada);
15 — cerda bipectinada;
16 — cerdas plumosas ou bipenadas;
17 — pelos curtos;
18 — pelos longos.

Armaduras de espinhos:

19 — espinha de encaixe (para engatar os pleopodos esquerdo e direito e poder os dois servirem de remo) como figuramos no *Hyale antares;*
20 — espinha em lança, exemplo no 3.º pleopodo de *Parelasmopus suluensis* Dana, junto ás espinhas de encaixe (segundo Sttebbing)
21 — espinho cônico, exemplo: como figuramos no maxilipodo da *Orchestoidea brasiliensis;*
22 — espinho reto curto, comum;
23 — espinho curvo;
24 — espinho em estoque, como o em lança mas prismático com um risco ao meio (o em lança é mais cilindrico);
25 — espinho em gládio, frequente nos maxilipodos com 2 margens paralelas estreitado em baixo;
26 — espinho em gladio biselado, frequente nos maxilipodos;
27 — espinho em cimitarra, frequente nas maxilas e maxilipodos;
28 — espinho em dardo, frequente na I maxila exemplo: na I maxila do *Elasmopus brasiliensis;*
29 — espinho em alabarda exemplo: no maxilipodo de *Cyphocaris micronix* Stebbing, no *Hyale antares.*
30 — espinhos em frâmea, frequente nos maxilipodos.
31 — espinhos em lanceta, frequente nos gnatopodos, maxilas e outros apendices;
32 — espinho pectinado; exemplo na I maxila de *Tryphosa barbatipes* Stebbing é como figuramos na I maxila de *Hyale media;*
33 — espinho uncinado ou uncinado em árpeo-no genero *Amphitoe;*
34 — espinho em forcado, exemplo na I maxila de *Rhachotropis kerqueleni* Stebbing;
35 — espinho em clava, exemplo no maxilipodo de *Tryphosa barbatipes* Stebbing, no maxilipodo de *Melita lagunae.*
36 — espinho em bulhão, exemplo varios gnatopodos de *Orchestia;*
37 — espinho em tridente — exemplo na I maxila de *Anonyx ampulloides* Stimpson & Bate e em numerosas I maxilas figuradas e descritas por nós como seja a I maxila de *Orchestoidea brasiliensis;*
38 — espinho falcado ou em alfange, muito comum, exemplo: os do uropodo de *Elasmopus saltitans;*
39 — espinho em agulha — exemplo no II uropodo de *Maera bruzelli* Stebbing;
40 — espinho em foicinha, em labio superior de *Autonoe* de algumas especies;
41 — espinho em alfange farpado, isto é, denteado por fora, ou falcado farpado, como mostramos no *Anaelasmopus Kraui;*
42 — espinho falcado serrilhado, isto é, denteado por dentro muito comum nas I maxilas;
43 — espinho em florete, com a ponta romba, exemplo existente em alguns pleopodos de espécies do genero *Cyphocaris* e *Oxocephalus.*

ESTAMPA 1


GNATOPODOS
1
2
3
4
5
6
7
8
Telson
9
10
11
Lab. inf.
Cerdas
12
13
14
15
16
17
18
Espinhos
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43

Familia *Atylidae*

Atylina Lilljeborg, 1865, vol. 6, n 1, p. 18
Atylinae (par) Boeck, 1876, vol. 2, p. 320
Atylidae Sars, 1882, vol. 18, p. 26
Atylidae Stebbing, 1888, vol. 29, 899
Atylidae Stebbing, 1906, vol. .., 327
Atylidae Barnard, 1932, vol. 5, p. 183
Atylidae Barnard, 1940, vol. 32, p. 533.

Corpo fortemente comprimido, carinado; 5.º e 6.º segmentos do pleon coalecidos; I antena sem flagelo acessorio ou então este sendo rudimentar. Labio superior arredondado. Labio inferior com os lobos internos obsoletos. Mandibula com palpo. I maxila com varias cerdas e espinhas na lamina interna. II maxila com a lamina interna parcialmente franjada internamente. Maxilipodos de palpo bem desenvolvido. 1.º e 2.º gnatopodos sub-quelados sendo o 2.º geralmente o mais delgado e comprido. Os pereopodos com os dedos geralmente voltados para traz; 3.º uropodo de ramos subeguais ultrapassando os do 2.º uropodo. Telson profundamente fendido.

CHAVE DOS GENEROS

1 — Palpo mandibular fraco. 4.º segmento do pleon dorsalmente entalhado ..... Genero NOTOTROPIS
1A — Palpo mandibular forte, grosso; 4.º segmento do pleon sem entalhes ..... Genero ATYLUS

GENERO *NOTOTROPIS* Costa

Nototropis Costa, 1853, vol. 2, p. 170
Parampithoe Bruzelius, 1859, vol. 3, p. 68
Epidesura Boeck, 1861, vol. 8, p. 659
Paratylus Sars, 1893, vol. 1, p. 462
Nototropis Stebbing, 1906, vol. 21, p. 329
Nototropis Shoemaker, 1932, vol. 4, p. 199
Nototropis Barnard, 1940, vol. 32, p. 533

Corpo comprimido, carinado. 4.º segmento do pleon com um entalhe dorsal anterior.

Cabeça rostrada, margens laterais sinuosas; placas laterais 1 a 4 de tamanho moderado (isto é pouco menores ou até da mesma altura que o segmento correspondente) geralmente pouco menores no macho que na fémea, sendo que a 5.ª apresenta o lobo anterior maior que o posterior. I antena mais curta que a II e sem flagelo acessorio, ambos os pares alongados no macho. Mandibula normal, palpo delgado, fracamente armado. I maxila geralmente com lamina externa com espinhos, palpo de articulos. II maxila de lamina externa maior que a interna. Maxilipodo com a lamina externa mais longa que o 2.º articulo

do palpo delgado. I gnatopodo pouco coisa mais grosso e mais curto que o II, propodo oval, muito cerdado anteriormente, carpo de ambos os pares triangulares, alongados, palmas obliquas. I pereopodo mais longo que o II; III pereopodo curto e com 2.º articulo piriforme; IV e V pereopodos longos, sub-eguais, 2.º articulo no V pereopodo mais expandido, os dactilos os pereopodos III, IV e V muitas vezes invertidos. As vesiculas branquiais por vezes pregueadas. 1.º e 2.º uropodos de ramo externo mais curto. 3.º uropodo de ramos sub-eguais, lanceolados, espinulosos. Telson curto, profundamente fendido, apices subtruncados.

NOTOTROPIS MINIKOI (Walker)

(Estampa II)

Paratylus minikoi Walker, 1905, vol. 2, p. 925, f. 141- I-IV
Nototropis minikoi Chilton, 1922, p. 9, fig. 4
Nototropis minikois Chilton, 1923, p. 242
Nototropis minikoi Shoemaker, 1932, vol. 45, pp. 199-200
Nototropis minikoi Schellenberg, 1938, vol. 71, 206.

Cabeça do comprimento dos 2 primeiros segmentos do pereon, com um rostro pequeno; segmentos do pereon e 1.º, 2.º e 3.º segmentos do pleon sem dentes postero-dorsais.

Placas laterais altas de cantos arredondados; a 1.ª, 2.ª e 3.ª sucessivamente aumentando em tamanho até a 4.ª, são mais razas as 5.ª, 6.ª e 7.ª, mais de metade menos altas que as anteriores. Pleon desenvolvido com a face dorsal lisa, o epimero do 3.º segmento apresenta na margem posterior: um canto em angulo reto postero-inferior seguido de uma convexidade ocupando quasi metade da altura do segmento, depois um angulo obtuso. Urosoma, caracteristico da especie *minikoi* apresentando: dorsalmente o 1.º segmento é deprimido no meio, seguido de uma carina elevada e pontuda, os 2.º e 3.º segmentos são coalecidos somente apresentando uma carina dorsal. I antena (no exemplar com 5 mm. de comprimento no nosso especime) com 7 mm. de comprimento alcança até ao 10.º articulo, talvez por ser este maior, sendo a I antena pouco menor que 1/3 do comprimento do corpo; sem flagelo acessorio, pedunculo curto (do tamanho da cabeça e 1.º segmento do pereion) sendo o 1.º articulo maior que o 2.º, o 2.º maior que o 3.º; flagelo de 22 articulos. 2.ª antena alcança até ao 5.º segmento do pereon. Os orgãos bucais são normais, de mesmo formato que o *Paratylus swamerdami* M. Edw., Sars, pl. 163.

Mandibula de palpo 3-articulado, parte incisiva a 2 corôas denteadas; 2 espinhas em alfange farpado, 2 em dardos: 1 com 2 farpas outra com 3 farpas, parte molar em superficie de groza, com alguns denticulos laterais. I maxila de palpo muito mais longo que a lamina; lamina mastigatoria larga armada com 10 espinhos: 7 em dardos farpados e 3 penados. II maxila, a 2 laminas cerdadas de tamanho desigual. Maxilipodo de palpo 4 — articulado; lamina basal com 3 cerdas

internas mais grossas e distalmente 4 espinhos em framea e 2 cerdas recurvas. O I gnatopodo é semelhante ao II, embora menor e apresenta o propodo somente com cerdas II gnatopodo com o 2.º articulo mais longo que os 2.º, 3.º e 4.º articulos juntos, 3 grupos de cerdas em sua margem posterior, carpo pouco mais curto que o propodo, alargado distalmente com 3 tufos de cerdas: um anterior, um distal e outro posterior.

Propodo ovoide, palma continuando insensivelmente com a margem posterior separada unicamente por duas espinhas no meio; ha 3 espinhas sub-proximais posteriores. Dactilo curvo, liso. I e II pereiopodos curtos e muito semelhantes, mais finos que os outros, sendo o I pouco mais longo; III pereiopodo mais curto que os IV e V, o 2.º articulo é piriforme, com cerdas nas margens anteriores e posteriores, apice antero-distal com 1 espinho; 4.º articulo alargado distalmente; o articulo carpal é mais curto que o propodal, IV pereiopodo o mais longo, seu 2.º articulo alargado, denteado anteriormente, uma pequena ponta rombada, distalmente; posteriormente com 3 grupos de espinhos em V; o 3.º articulo curto com 1 espinha posterior, 4.º, 5.º e 6.º articulos quasi de mesmo comprimento, sendo o 5.º pouco maior que o 6.º, todos guarnecidos com espinhas em V; dactilo curvo, liso, V pereiopodo menor que IV, 2.º articulo de margem anterior lisa, proximo a esta 3 espinhas duplas em V, posteriormente a margem tem 7 denteações em escada, com 7 dentes, uma pequena proeminencia sub-triangular com 1 espinha no resto semelhante ao IV. Uropodos: 1.º par mais longo, o ramo maior do 2.º par alcançando tão longe quanto o 3.º par, que tem os ramos duas vezes mais longos que seu pedunculo.

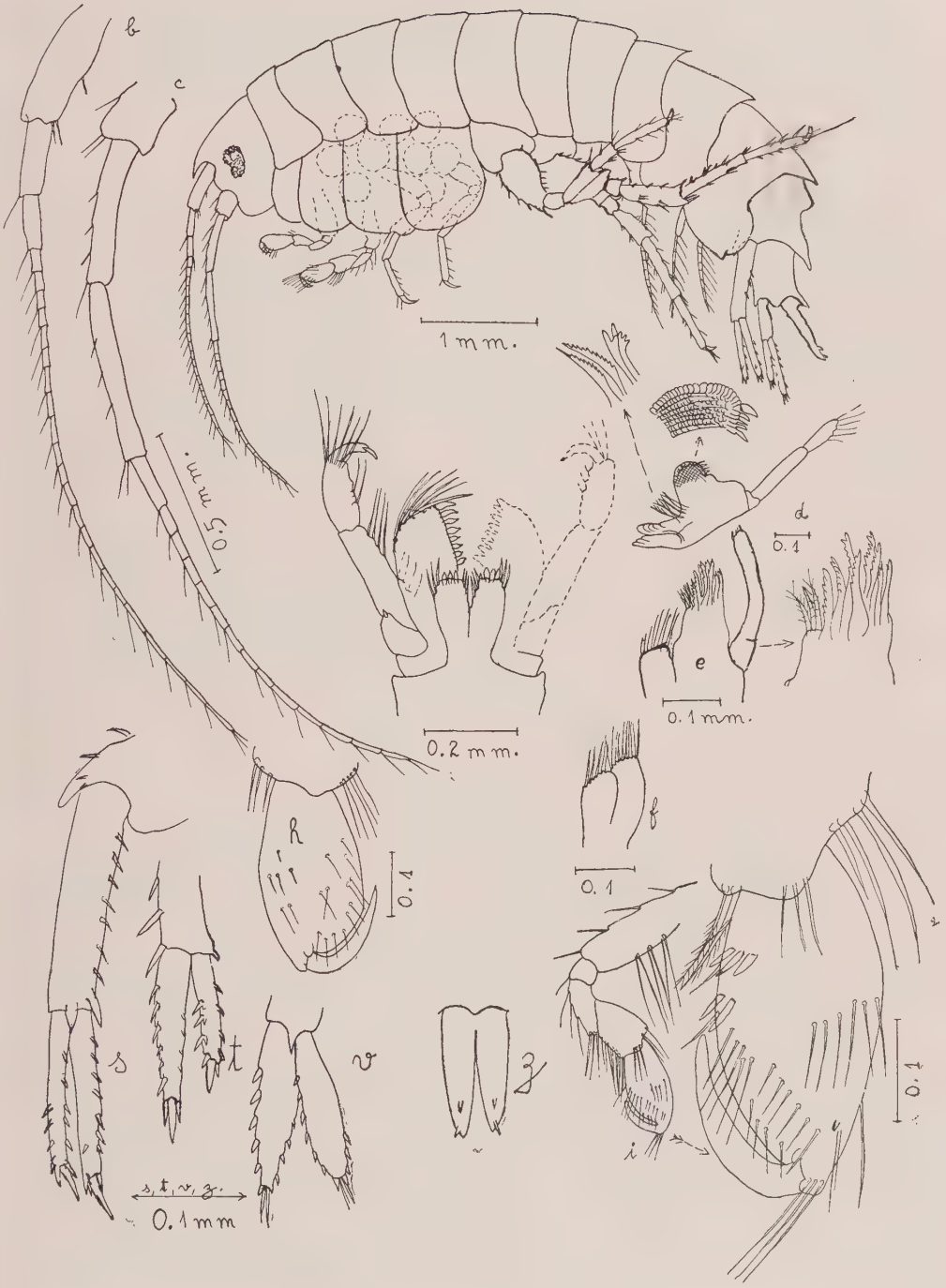
I uropodo pedunculo 4/3 maior e mais forte que os ramos, com 7 espinhos marginais e 2 espinhos distais maiores, os dois ramos são de quasi o mesmo tamanho. (O externo 1/20 maior que o interno) ambos truncados com 1 grande e 2 menores espinhos marginais. II uropodo com pedunculo com varios espinhos; ramo menor com 3/4 do ramo interno, apresentando 4 espinhos marginais exteriores e 3 espinhos duplos em V internamente ápice truncado obliquamente com um espinho maior entre 2 menores; ramo interno com 6 espinhos marginais internos, 4 espinhos marginais internos, ápice truncado com 1 grande espinho entre 2 menores. O III uropodo tem ramos alongados, o ramo exterior com 2 espinhas e 2 cerdas apicais; 3 espinhas curtas e retas exteriores e 6 espinhas interiores, o ramo interno: — 2 espinhas e 2 cerdas apicais, 4 espinhas exteriores, 5 internas; margem distal truncada; Telson alongado, alcança pouco alem do meio do 3.º uropodo, fendido quasi até a base, termina em ponta rombuda e cega, onde ha 2 curtos espinhos disto-laterais.

Medidas. — Femea, da cabeça a cauda: 7mm., antena 2,8mm.; total 9,8mm.

Distribuição geografica — Ilha de Paquetá (Baia de Guanabara) Praia do Arpoador (Rio de Janeiro). Baia de Sepetiba, Estado do Rio de Janeiro.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

ESTAMPA 2



Material — do frasco 1790, com vários exemplares colhidos pela Dra. Luiza Krau em 20 de Março de 1949 na Praia de Sepetiba a 23° Lat. S. junto á outros *Amphipoda:* — *Autonoe* sp e *Caprela* do frasco tiramos o exemplar fêmea que foi montado nas laminas 1790-1802.

FAMILIA GAMMARIDAE

Corpo mais ou menos delgado, os segmentos 4.°, 5.°, 6.° do pleon são bem definidos. Antenas geralmente delgadas, mas via de regra, não diferenciadas nos dois sexos; o flagelo da I antena pode ser muito longo, ou com poucos ou mesmo de um só articulo.

As peças bucais são todas normais. O labio superior apresenta a margem distal arredondada, inteira ou fracamente emarginada; labio inferior com lobos internos bem desenvolvidos ou pequenos ou ausentes.

Mandibula com a extremidade cortante com placa acessoria molar, e de palpo de 2 articulos, raramente o 1.° articulo é igual ao 2.° Maxilipodos de laminos internas e externas bem desenvolvidas, e com palpo. Gnatopodos de vários feitíos: I e II geralmente poderosos, as vezes somente sub-quelados, ás vezes ambos fracos; geralmente os do macho são maiores que os da femea. Pereopodos mais ou menos delgados, raro fortes, geralmente os articulos 3.°, 4.° e 5.° são pouco expandidos. Os pleopodos só por execção não apresentam um dos ramos. Uropodos 3.° apresenta um ou dois ramos, mais ou menos foliáceos, projetando as vezes alem dos 1.° e 2.° uropodos. Nunca apresentam ganchos nos urópodos e no telson. Telson de margens inteiras, ou fendidas, muitas vezes muito diferentes nos dois sexos.

Animais de aguas doces, salobras e salgadas; mas raramente oceanicos de alto mar.

CHAVE PARA OS GENEROS DE *GAMMARIDAE*

1. — Pleon de segmentos 4.°, 5.° e 6.° não coalecidos; pleopodos sempre com dois ramos:
   *) o 3.° uropodo apresenta um ramo somente 2
   **) o 3.° uropodo apresenta 2 ramos 3
2. — varios generos — *Crangonyx, Hyallelopsis* de lagos e rios, assinalados no Brasil.
3. — telson inteiro 11
3a. — telson fendido 4
4. — I antena com flagelo acessorio de 1-2 articulos 12
4a. — I antena com flagelo acessorio de 3 ou mais articulos 5
5. — Corpo fracamente carinado 6
5a. — Corpo distintamente carinado 11
6. — Corpo com grupo de espinulas dorsais 10
6a. — Corpo sem espinulas dorsais 7
7. — 3.° uropodo de ramos iguais não largos 11
7a. — 3.° uropodo com um ramo, ou 2 ramos largos 8

8. — 3.º uropodo de ramos muito desiguais, mais de 5 vezes um maior que o outro ..... GEN. *MELITA*
8a. — 3.º uropodo de ramos não muito desiguais 9
9. — 2.ª antena delgada, 1.º e 2.º maxilas de placas internas não muito setosa, sendo:
   */ pereiopodos 3.º, 4.º e 5.º robustos GEN. *ELASMOPUS*. (maxila 1.ª: a placa externa só com 7 espinhos; sendo que este caracter ainda não foi estudado em todas as especies)
   **/ pereiopodos 3.º, 4.º e 5.º delgados (1.ª maxila com a placa externa com 10 espinhos, mas caracter não verificado em todas as especies) Gen. *MOERA*
10. — Especies com olhos, de forma regular, 5.ª placa lateral não denteada, não têm tuberculos espinhosos nos segmentos 4.º e 5.º do pleon, mas um pequeno grupo de espinulas dorsais nos 4.º, 5.º e 6.º segmentos ..... Gen. *GAMMARUS*
11. — Varios generos não assinalados.
12. — *Anaelasmopus* n. gen. (ver definição a pag. ..)

MELITA Leach

Melita Leach, 1813, vol. 7, pag. 403.
Paramoera Miers, 1875, vol. 16, pag. 75.
Melita Boeck, 1876, vol. 2, pag. 384.
Melita Dalla Valle, 1893, vol. 20, pag. 707.
Melita Sars 1894, vol. 1, pag. 507.
Melita Stebbing, 1906, vol. 21, pag. 421.
Melita Barnard, 1940, vol. 32, pag. 453, p. 534.

Corpo elegante, não bojudo; pereon liso; um ou mais segmentos do pleon armado com espinhas ou tuberculos na maioria das especies. Cabeça sem rostro, de lados arredondados. A 4.ª placa lateral é a maior. Olhos distintos pequenos. I antena maior que a II, delgada, pedunculo de 3 articulos e flagelo acessório. Peças bucais normais labio superior com emarginação central pequena; labio inferior de lobos distintos.

Palpo mandibular delgado o 2.º articulo é maior que o 1.º I maxila de lamina interna com cerdas e externa com 11 espinhos. II maxila ás vezes com setas na margem interna.

Maxilipodo de laminas externas com dentes interiormente.

I gnatopodo pequeno, subquelado; o II gnatopodo é o maior, sendo que no macho um deles ou o direito ou o esquerdo é muito maior; são quasi quelados em algumas especies; 3.º, 4.º e 5.º pereiopodos de 2.º articulo bem expandidos. Vesiculas branquiais simples.

Placas marsupiais estreitas. O II uropodo é o mais curto, enquanto que o III se projeta muito alem dos outros; o seu ramo externo longo de 2.º articulo rudimentar ou ausente; e sem ramo interno curto Telson pequeno, profundamente fendido.

Posição sistematica das especies de *Melita* brasileiras

1. — sem olhos, cegas ..... (*)
1A. — com olhos 2
2. — olhos fracamente pigmentados, e outros caracteres (existentes no Spittzberg e mares glaciais)
2A. — olhos fortemente pigmentados 3
3. — II gnatopodo do macho, um dos pares quelados 8
3A. — II gnatopodo do macho, ambos os pares quelados, e simetricos 9
3B. — II gnatopodo subquelado 4
4. — segmentos do pleon denteados, ou então somente o 1.º do pleon denteado ..... (*)
4A. — idem 4, não denteado 5
5. — II, IV, V pereiopodos delgados; flagelo acessorio da I antena maior que o pedunculo (Do Atlantico Norte) *M. nitida*
5A. — II, IV, V pereiopodos normais, flagelo acessório menor que o pedunculo 6
6. — flagelo acessório de um articulo; ramo externo do uropodo obliquamente truncado, côr branca pelucida, (Sul de Noruega) em agua salobra:

Melita pellucida

6A. — Flagelo acessório de 3 articulos 7
7. — II antena com 5.º articulo maior que o 4.º; ramo externo do ultimo uropodo com 4 cerdas internamente; e 1-4-4-4 cerdas externamente, ápice precedido por um degráo.

Melita mangrovi n. sp.

7A. — II antena com o 4.º articulo maior que o 5.º; ramo externo do ultimo uropodo com 5 cerdas internamente e 6 grupos de espinhas duplas no lado externo, ápice truncado com 4 cerdas e 3 espinhas...

Melita lagunae n. sp.

8. — assimetrico, ou o direito ou o esquerdo quelado; I antena com 4/5 do comprimento do corpo, flagelo de 40 articulos. Segmentos do pleon com 1 denticulo mediano, tendo de cada lado 3 denticulações maiores. Placas laterais normais não muito estreitas ..... *Melita fresnelli*
(Segundo o criterio de Stebbing com uma diagnose ampla e colocando em *fresnelli* as especies *anisochir, setipes, exilli* ela existirá no Rio de Janeiro e em Florianopolis)

* com asterisco, não verificadas no Brasil.

9. — Pleon liso. I gnatopodo pequeno; II gnatopodo grande e com enorme propodo triangular 10
10. — Com I antena tão longa quanto o corpo — *Melita setipes* Dana
10A. — Com I antena 1/3 do comprimento do corpo:

Melita setipes superba n. variedade

Melita fresneli (Aud.)

Gammarus fresneli Audouin, 1825, vol. 1, p. 93.
Amphitoe fresneli Milne Edwards, 1830, vol. 20, p. 377
Gammarus anisochir Kroyer, 1845, vol. 1, p. 317, t. 2, f. 1.ª-p
Gammarus (*Maera*) *validus*
+ *G.* (*M*) *pilosus* + *G.* (*M*) *setipes*. Dana, 1852, vol. 2, p. 212, 213
Gammarus (*M*) *validus* Dana, 1852, vol. 2, p. 212
Gammarus (*Maera*) *pilosus* Dana, 1852, vol. 2, p. 213
Gammarus (*Maera*) *setipes* Dana, 1852, vol. 2, p. 213
Maera valida + *M. setipes* +
+ *M. anisochir* Dana, 1853, vol. 13, p. 966, t. 66, f. 6, p. 968, t. 66, fig. 8
Maera valida Dana, 1853, vol. 13, p. 966, t. 66, f. 6
Maera setipes Dana, 1853, vol. 13, p. 966.
Maera anisochir Dana, 1853, vol. 13, p. 968, t. 66, f. 8
Melita valida Bate, 1862, vol. 33, p. 185, t. 33, f. 7
Melita setipes Bate, 1862, vol. 33, p. 186, t. 33, f. 8
Melita anisochir Bate, 1862, vol. 33, p. 186, t. 34, f. 1
Melita fresneli Bate, 1862, vol. 33, p. 186, t. 34, f. 2
Melita exilii Fritz Müller, 1863, p. 6, f. 1
Melita fresneli Miers, 1875, vol. 16, p. 75.
Melita australis Haswell, 1879, vol. 4, p. 264, t. 9, fig. 6-7
Melita cotesi Giles, 1890, vol. 59, p. 64, t. 2, f. 1
Melita fresneli Stebbing, 1906, vol. 22, p. 423.
Melita fresneli Barnard, 1940, vol. 32, p. 534

"Pereon completamente liso; 1.º segmento do pleon com um pequeno dente mediano rodeado de cada lado por 3 dentes maiores, e por fora por um dente rudimentar; 2.º segmento semelhante, mas o dente mediano é comparativamente menor, e o externo é maior; 3.º segmento com 7 dentes o mais externo é furcado; 4.º segmento com 5 dentes, sendo 2 grandes o médio e o externo pequenos; 5.º segmento com 2 dentes mais longos. As placas laterais 1-4 são de tamanho mediano, de margens inferiores cerdadas, 1.ª placa com denticulo no canto inferior. 3.º segmento do pleon com cantos postero-laterais com um dente longo, serrilhado em sua margem superior. Olhos escuros, aproximadamente circulares, 1.ª antena tendo cerca de 4/5 do comprimento do corpo do animal (nos exemplares grandes de 13 mm.) 1.º articulo mais curto que o 2.º, o 3.º escarçamente um 1/4 do 2.º, flagelo muito mais longo que o pedunculo, nos exemplares grandes de 13 mm. tem 40 articulos; flagelo acessorio de 6 articulos, mais compridos que 1/4 do 1.º flagelo.

2.ª antena mais curta, ultimo articulo do pedunculo pouco mais curto que o penultimo, flagelo medindo até 2/3 do pedunculo no exemplar grande, onde tem 20 articulos. Mandibula de 10 espinhas em fileira, palpo pequeno, mas mais longo que sua parte troncular. Placa interna da 1.ª maxila com 10 cerdas. I gnatopodo pequeno, de propodo oval, mais largo que o carpo, ambos cerdados, dactilo curto pontudo fortemente curvado, não parecendo muito movel. II gnatopodo na fêmea é analogo ao I.º mas mais comprido e mais largo, de propodo mais longo mas não proporcionalmente mais largo; margem interna do dactilo finamente denteadas. No macho o II.º gnatopodo e diferente lateralmente: — o direito é semelhante ao II.º da femea; mas o esquerdo é mais robusto, de base grande e dilatada,mero com ponta para traz, carpo pequeno, propodo grande, retangular e formando quela com o dactilo; a margem articular com o dactilo e quasi em angulo reto com a margem posterior e tem 3 denticulos tuberculiformes e varias pontuações. 1.º pereiopodo mais longo que o 2.º. Os pereiopodos 3.º, 4.º, 5.º tem a base finamente serrilhada. Posteriormente. 4.º pereiopodo pouco mais longo que o 5.º; 1.º uropodo de pedunculo e ramos de mesmo tamanho; 2.º uropodo de ramos pouco maiores que o 3.º uropodo de ramo externo aproximadamente 2 vezes o tamanho do pedunculo, o ramo interno menor e quasi linear. Telson fendido aproximadamente na base, lobos conicos delicentes, apices um pouco curvados para dentro. Côr amarelada cinza, dedo da quela branco porcelana." Redescrição de KROYER 1845, modificada por STEBBING em 1906.

NOTA — Damos a redescrição desta especie, que segundo STEBBING era considerada existente no Brasil, em Florianopolis e no Rio de Janeiro, nela incluindo as especies *M. setipes*, *M. valida* e *M. exillii* como sinonimos. Não a encontramos no Rio de Janeiro ainda.

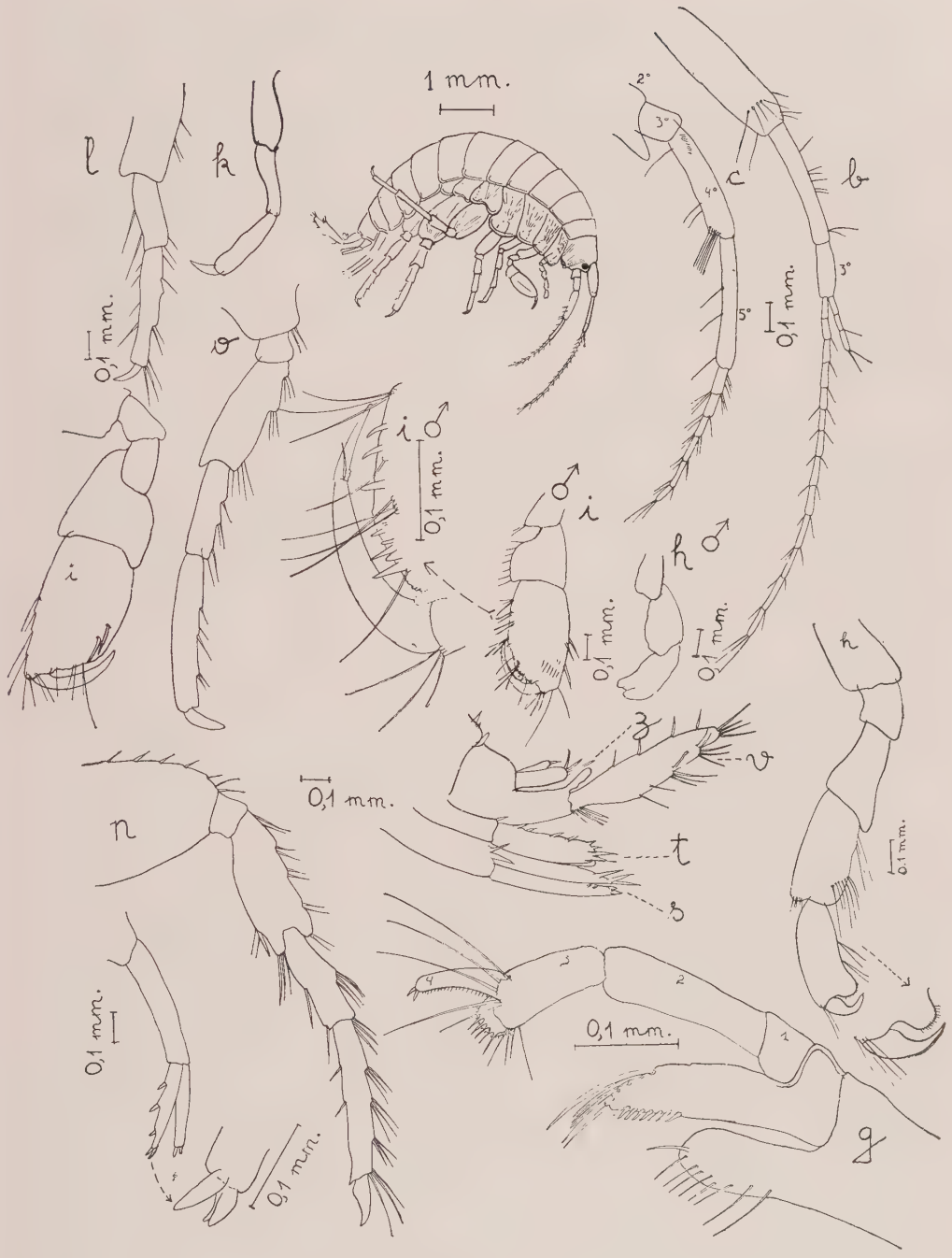
MELITA MANGROVI nova especie
(estampas III e IV)

Corpo moderadamente robusto mais ou menos comprimido, com o péreon e pleon completamente lisos, sendo que o âltimo segmento do pleon apresenta duas minusculas espinhas dorsalmente. Cabeça do mesmo comprimento dos 2 primeiros segmentos do pereion juntos, com um lobo entre as duas antenas.

Placas laterais: a 1.ª mais alta que o 1.º segmento do pereion, pouco mais larga distalmente; a 4.ª fracamente emarginada posteriormente, a emarginação definindo um lobo; as 5.ª, 6.ª e 7.ª são cada vez mais baixas, como acontece nas outras especies do genero *Melita*. Olhos praticamente circulares, pequenos, pigmentados de castanho escuro, quasi negros. A I antena tem quasi 1/3 do comprimento do animal, o 1.º articulo do pedunculo é mais longo e maior que os outros articulos, tem 2 carreiras de cerdas distalmente, o 3.º articulo é pouco menor que a metade do 2.º articulo, dele saindo o flagelo acessorio triarticulado, que é do mesmo comprimento que este 3.º articulo do pedunculo; flagelo principal de 13 articulos. A II antena é cerca de

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

ESTAMPA 3


1 mm.
0,1 mm.
0,1 mm.
0,

2/3 do comprimento da I, seu pedunculo apresenta o 4.º articulo mais grosso e com 10/11 do comprimento do 5.º, tem um pente de 5 longas cerdas distalmente; o 5.º articulo é do mesmo comprimento que o 2.º articulo da I antena, mas aquí ele sustenta um flagelo de 6 articulos que é quasi nada mais longo que este 5.º articulo; ambas antenas tem varias cerdas mas nenhum espinho. Labio superior arredondado. Mandibula: de uma lamina incisiva com 3 dentes, entre a parte molar e a incisiva 5 espinhas curvas. I maxila: com a placa externa com 5 espinhos em dardo, 2 espinhas lisas curvas e uma espinha farpada convexamente; palpo de 2 articulos. A II maxila de lamina oblongas, cerdadas no ápice e uma cerdada internamente. Maxilipodos: o palpo de 4 articulos, sendo o 2.º articulo o mais longo, o 3.º articulo apresenta distalmente duas formações: um lobo esférico com cerdas franjadas irradiando, e o 4.º articulo que é unguiforme, liso por fora e serrilhado por dentro.

I gnatopodo menor que o II, o carpo e o propodo são de mesmo comprimento, mero com uma proeminencia lobiforme posteriormente, carpo trapezoidiforme com uma franja de cerdas proximo a extremidade postero-distal, propodo alargando distalmente, em campánula, com um lobo palmar com pêlos curtos, o dactilo recurvo em forma de virgula encosta sua ponta neste lobo não fechando totalmente contra a palma. O I gnatopodo do outro lado ainda não tem o dactilo totalmente crescido. O II gnatopodo é bastante maior que o I, o seu carpo é lobado posteriormente, o propodo é sub-oval duas vezes mais comprido que largo, margem anterior reta, palma obliqua continuando harmonicamente com a margem posterior, notando-se que no local onde ha 2 espinhas é onde a ponta do dactilo toca, isto é o fim da palma; junto á articulação do dactilo existe o que parece-nos seja um espinho em bastonete e depois vem uma zona festonada entre este bastonete e o 1.º espinho; talvez ambos sejam artificios de preparação porque não encontramos senão em 1 animal); a palma apresentando depois: 7 espinhos de varios tamanhos e varias cerdas em toda a margem.

O dactilo pouco curvo, margem externa lisa, e margem interna com um cilio; os pereiopodos de 3.º, 4.º 5.º pares são mais fortes que os 2 anteriores e tem o 2.º articulo maior e regularmente ovoide, sendo que o 5.º pereiopodo apresenta o basipodito (2.º articulo) com 5 espinhas curtas regularmente espaçada. O I par de uropodos pouco maior que o II.º; o III par é de cerca do mesmo comprimento que os 3 ultimos segmentos do pleon juntos, o ramo interno é liso, mede 2/10 do comprimento do ramo externo, que é exageradamente grande, é oblongo, na sua margem externa estão: 1 cerda, uma denteação em degráo com um tufo de 4 cerdas, outra denteação com um tufo de 5 cerdas e apicalmente 5 cerdas; a margem interna tem 4 cerdas regularmente espaçadas. Telson é de mesmo comprimento que a porção basal do ultimo uropodo, dividido por um sulso profundo em 2 laminas triangulares cada uma delas levando: na margem interna: 1 espinha mediana, e 2 até 3 espinhas proximo do ápice, que é agudo; na superficie ha uma espinha, na margem externa 2 espinhas e cerdas proximas ao ápice.

ESTAMPA 4

Femea — ovos elipsoides, lisos de 27 x 33 micra; apresentam o tuberculo do 3.º articulo do palpo do maxilipodo menores e a unha do palpo do maxilipodo termina em gancho.

Côr — quando vivo, cinza esverdeado, placas laterais e patas amarelo ouro. Olhos negros.

Medidas — todo o animal, desde a ponta da antena até a ponta do III uropodo, quando esticado: 10mm. a 9.7mm. Da cabeça ao telson: 7,6mm. Demais medidas (EST. 3 e 4) material 2528.

Distribuição geografica: Baía do Rio de Janeiro, Ilha do Pinheiro, em manguesais, da superficie até 2m. de fundo.

Material examinado

Holotypo desenhado inteiro e montado nas laminas n.º 2529-2533. Apanhado no manguesal, no canal entre as Ilhas do Pinheiro e da Sapucaia, ao nivel do mar em latas com caracas e em carangueijos guaias crustaceos *PANOPEUS HERBSTII* junto da arvore com mangue: *Rhizophora mangle* em 30 de março de 1950 e Cat. 2535 — 1 lamina com 1 exemplar. Cat. n.º 3329; 1 femea capturada em 5 de junho de 1951, a 2 m. de fundo, na lama, no canal entre a Ilha do Pinheiro e Praia de Inhauma.

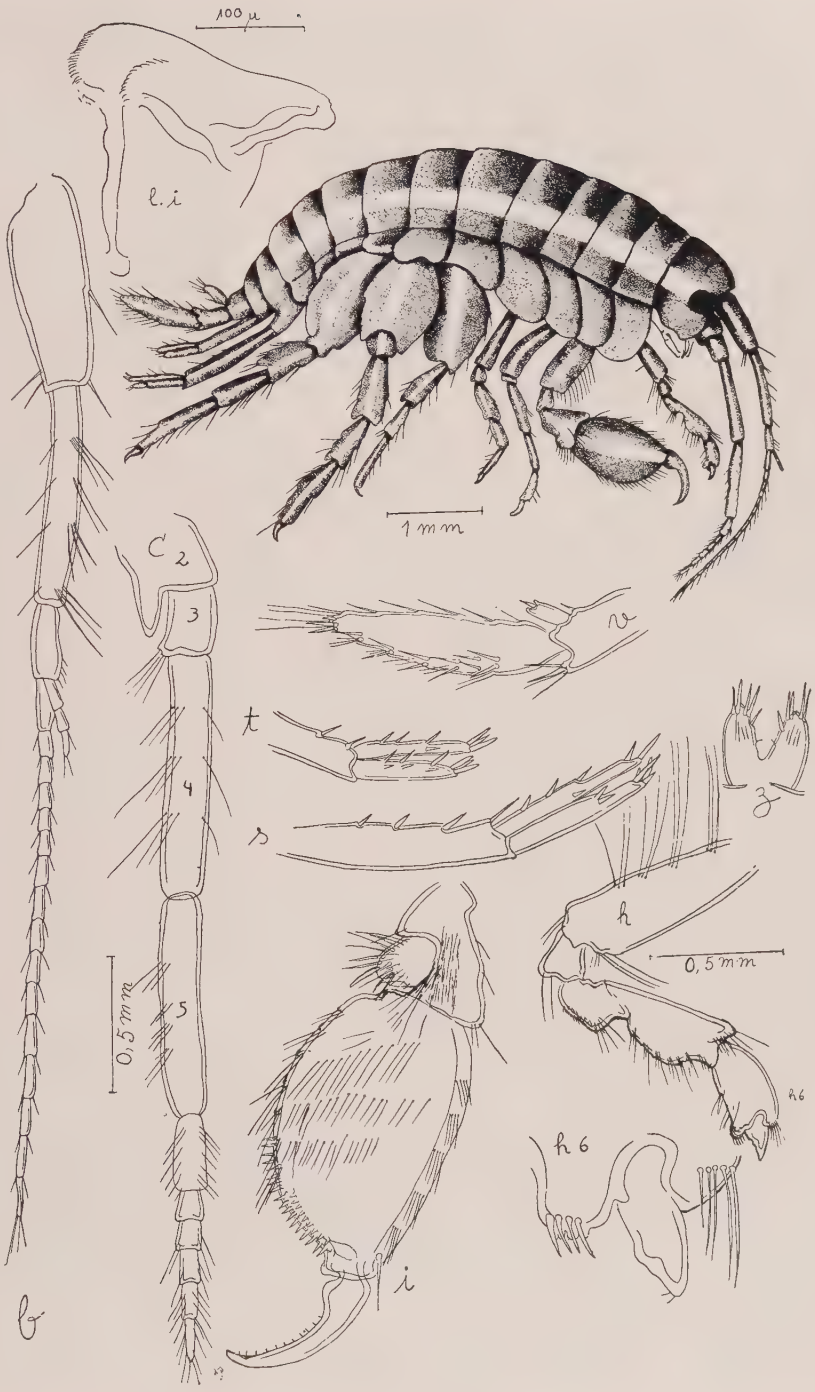
Melita lagunae
nova especie
(estampa 5 e 6)

Corpo moderadamente robusto, relativamente comprido, com o pereion e o pleon completamente lisos, cabeça 1 1/2 vezes o comprimento do 1.º segmento do pereion. Placas laterais da 1.ª até a ultima diminuindo progressivamente. Olhos elipticos de tamanho médio, fortemente pigmentados.

I antena metade do comprimento do corpo, o pedunculo tendo o 1.º articulo pouco mais curto que o 2.º, mas mais grosso; 3.º articulo 1/3 do comprimento do 2.º e levando um flagelo acessorio quasi de igual comprimento, triarticulado; flagelo principal com 18 articulos, medindo 11/10 de comprimento do pedunculo. A antena apresenta 4 tufos de cerdas no 2.º articulo, e varias nos outros articulos.

A II antena é pouco menor que a I, medindo 7/8 desta, seu pedunculo é muito maior que o da I, pois alcança até ao 4.º articulo do flagelo principal, pouco alem do flagelo acessorio; 2.º articulo peduncular com a ponta conica, 3.º articulo quadrado, 4.º articulo 1/10 mais comprido que o 5.º, que é do mesmo comprimento que o 2.º da I antena, flagelo curto, de 6 articulos; de mesmo comprimento que o 4.º articulo peduncular. Mandibula com as duas laminas incisivas tendo 4 dentes cada uma, e 7 espinhas farpadas curvas; palpo mandibular triarticulado, delgado; 1.º e 2.º articulos de mesmo comprimento e 3.º articulo mais de duas vezes o comprimento do primeiro. Labio inferior, como no genero *Melita*.

ESTAMPA 5



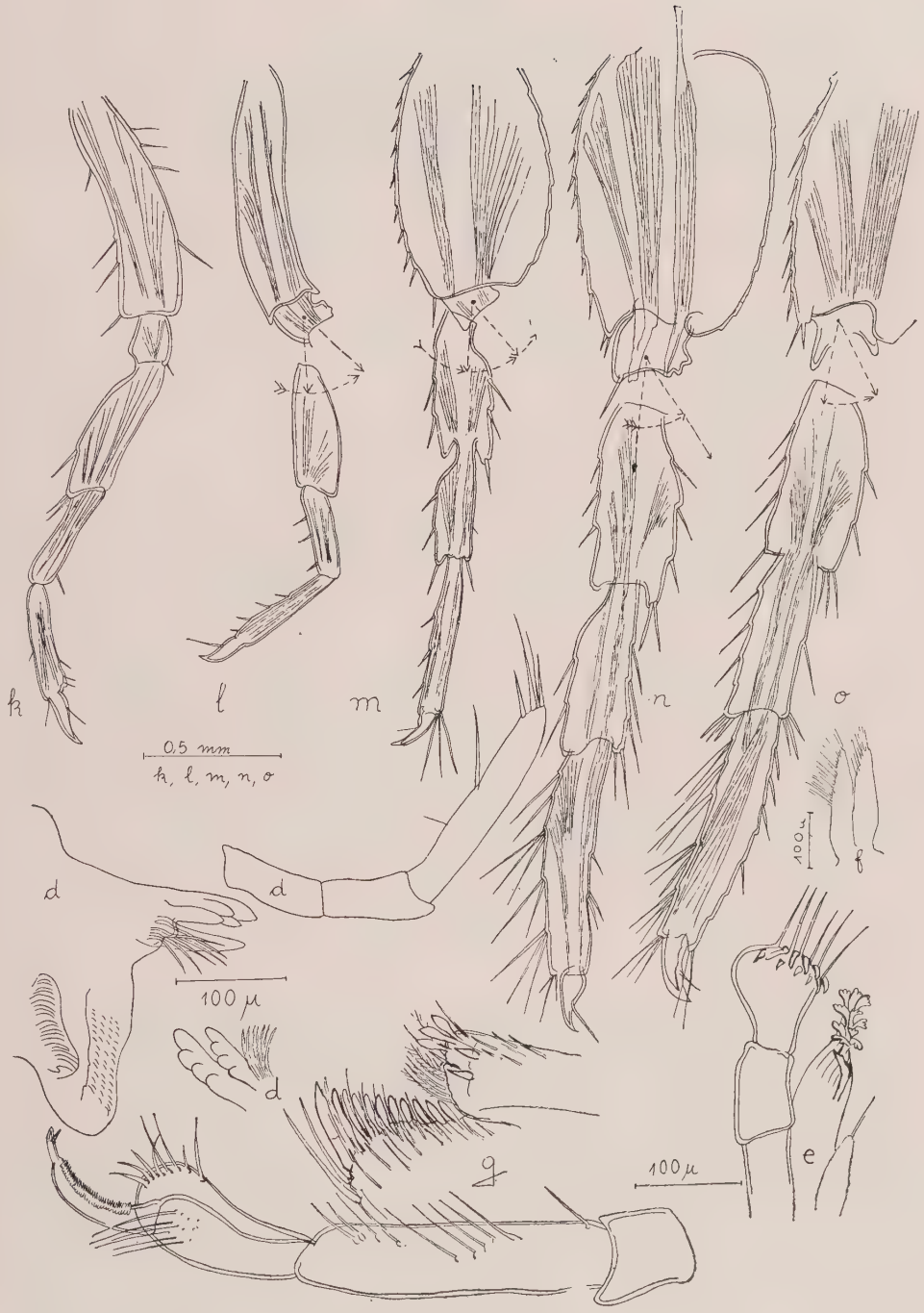
Primeira maxila— com a placa externa com 1 espinho em dardo, 9 espinhos em tridente, e um espinho em alfange farpado; palpo de 2 articulos, sendo o ultimo articulo muito alargado distalmente.

Segunda maxila com as duas laminas oblongas de mesma altura.

Maxilipodo: com a lamina da base com margem interna lisa, sua superficie com numerosas cerdas e espinhos, sua margem distal com 3 espinhos em lanceta e 6 espinhos plumosos. Lamina do isquio com 14 espinhos sendo cada qual mais comprido, os primeiros 8 são espatuliformes os 9.º, 10.º, 11.º e 12.º são alongados curvos e grossos, os 13.º e 14.º são finos, e curvos. Palpo do maxilipodo com 4 articulos, sendo o 2.º articulo o mais longo, (proporcionalmente muito mais longo que o de *Melita mangrove*), o 3.º articulo com um lobo esférico, o 4.º articulo unguiforme, liso por fora serrilhado por dentro, tendo uma pequena unha com um cilio interno. O I gnatopodo menor que o II subquelado fracamente, o carpo é maior que o propodo, isto é do mesmo comprimento que este articulo e mais o dactilo junto, mero curto de mesmo comprimento que o isquio, arredondado e levemente piloso carpo com a margem anterior grande e reta tendo distalmente uma proeminencia onde está inserida uma carreira de cerdas; margem posterior arredondada com 6 denteações de onde saem 6 tufos de cerdas; Propodo com margem anterior lisa e convexa terminando em um lobo com uma carreira de cerdas; margem posterior quasi reta, tendo 3 implatações para cerdas e distalmente com um lobo arredondado onde ha 6 cerdas. Não ha palma porque o pequeno dactilo triangular se implanta em uma cavidade no meio da margem distal que é truncada em angulo reto e entre os dois lobos. II gnatopodo fortemente sub-quelado, maior que o I; o seu propodo é sub-ovoide, com a margem anterior menos convexa que a posterior, tendo na parte hialina 6 carreiras de cerdas lisas, margem posterior começando por uma parte aonde ha 6 tufos de cerdas, seguida depois de uma parte espinhada, com 18 espinhos na superficie; ha paralelamente outra carreira de espinhos, superficie muito cerdada; margem distal pequena truncada, reta, lisa, margem proximal lisa, quasi reta, 2 vezes o comprimento da margem distal; Carpo e isquio fundidos em uma peça triangular, da qual o carpo é um lobo sub-ovoide e muitissimo cerdado. Dactilo grande, curvo, liso por fora com uma dezena de cilios curtos internamente. 1.º e 2.º pereiopodos muito semelhantes, sendo o 1.º pouco maior. 3.º par de pereiopodos mais curto que o 4.º e o 5.º apresentando todos o 2.º articulo alargado e com margens denteadas e serrilhadas, o 4.º articulo com apices distalmente. 1.º par de uropodos o mais longo, o 3.º par de uropodos tem o ramo externo grande e foliaceo, com 6 carreiras de espinhos externamente, apice truncado com 3 espinhos e 4 cerdas; margem interna com 6 cerdas, ramo interno pequenino 1/5 do comprimento do externo. Telson fendido, cada ramo com 4 espinhos distais, 1 pequeno e 1 grande espinho internamente.

Medidas — o macho holotipo mede da cabeça até ao uropodo — 7,5mm, antena — 3,8 mm, total — 11,3 mm.

ESTAMPA 6



Distribuição geografica — Lagôa de Maricá, Estado do Rio de Janeiro.

Material examinado — Lagôa de Maricá, Praia do Saco das Flores na laguna do Boqueirão. Entre Algas, 21 SET. 1950.

Capturado pela Dra. Luiza Krau. Holotipo dissecado e distribuido nas laminas 2804-2810. Agua salobra.

Melita setipes (Dana)
Estampa VII

Gammarus (*Maera*) *setipes* Dana 1852, vol. 2, p. 213
Maera valida + *M. setipes*
+ *M. anisochir* Dana 1853, vol. 13, p. 966, t. 66, f. 6. p. 968, t. 66, fig. 8.
Maera valida Dana 1853, vol. 13, p. 966, t. 66, f. 6.
Maera setipes Dana 1853, vol. 13, p. 966
Maera aniscochir Dana 1853, vol. 13, p. 968, t. 66, f. 8.
Melita valida Bate 1862, vol. 33, p. 185, t. 33, f. 7.
Melita setipes Bate 1862, vol. 33, p. 186, t. 33, f. 8.
Melita anisochir Bate 1862, vol. 33, p. 186, t. 34 f. 1.
Melita fresneli (part) Stebbing 1906, vol. 22, p. 423.

A especie *Melita setipes* foi descrita por Dana de material proviniente da Praia Grande, proximo a Niteroi, Baia de Guanabara.

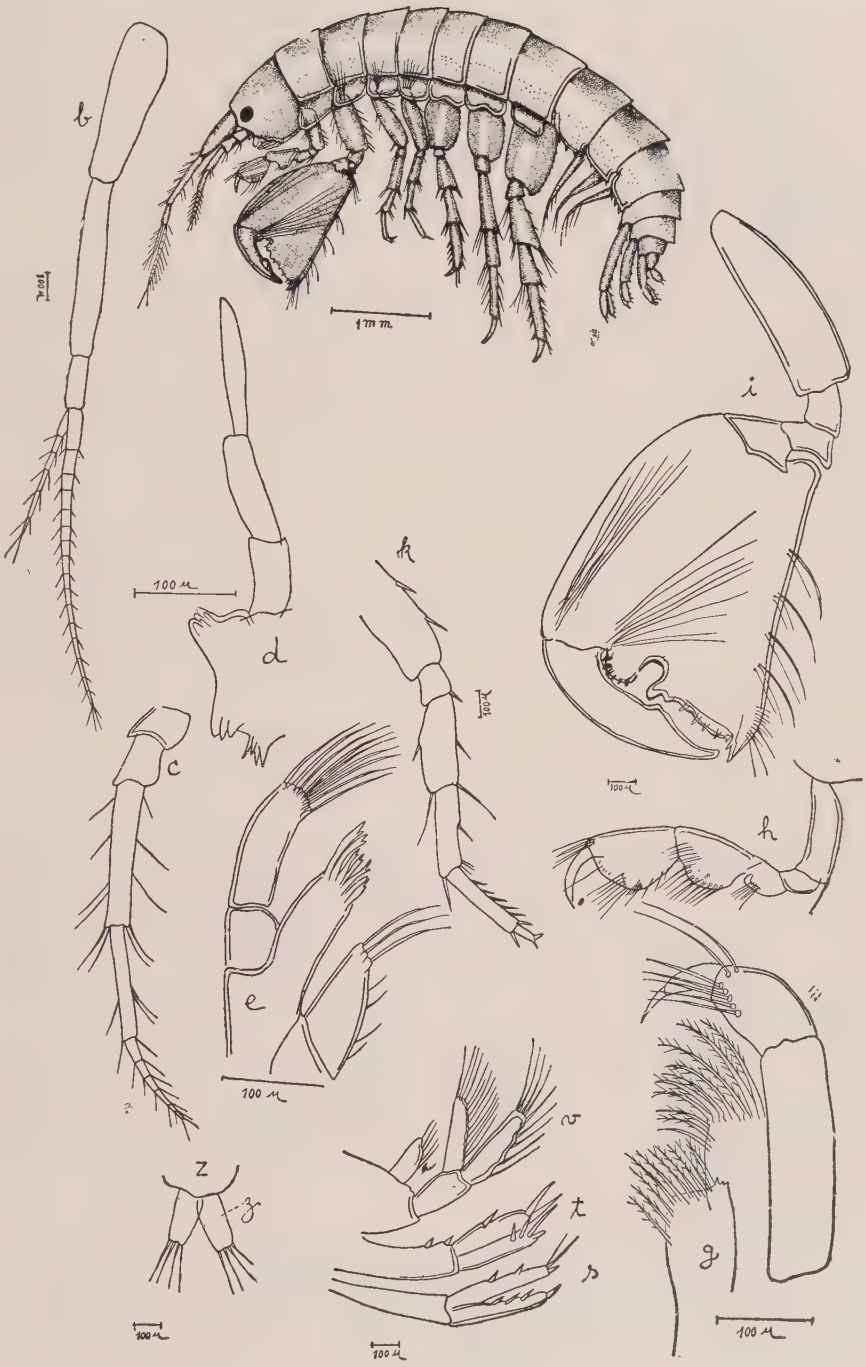
Stebbing colocou-a em sinonimia com *Melita fresneli* dando para isto uma diagnose mais geral ao conceito da especie *fresnelli*. Como não pudemos enquadrar estas *Melitas* nem na *M. fresneli* e nem na da coleção da Estação de Hidrobiologia típica *M. setipes* nós as apresentamos como uma variedade de *M. setipes:* var. *superba*—

MELITA SETIPES var. SUPERBA nova variedade.
(Estampa VII)

Descrição

Pereon liso; Segmentos do pleon lisos, sem dentes medianos superiormente; Placas laterais de tamanho pequeno, pouco cerdadas. Olhos escuros arredondados. I antena cerca de 1/3 do comprimento do corpo, o 2.º articulo maior que o 1.º; flagelo menor que o pedunculo, com 16 articulos, o flagelo acessorio de 6 articulos. II antena mais curta, alcançando até o 3.º articulo do pedunculo da I antena o seu pedunculo de 5 articulo menor que o 3.º; o 5.º pouco menor que o 4.º; flagelo de 6 articulos pouco menor que o 5.º articulo. O I gnatopodo é pequeno de propodo sub-ovoide do mesmo comprimento do carpo que tem margem reta anteriormente e é lobado posteriormente; dactilo curvo em unha, liso. II gnatopodo caracteristico, grande com o propodo triangular, margem anterior lisa e pouco convexa, margem posterior reta com

ESTAMPA 7



poucas cerdas; palma obliqua tendo anteriormente um tuberculo com varios espinhos, seguido de uma cavidade, depois em uma porção mais ou menos reta ha: 2 ondulações, 5 espinhos; no canto posterior ha uma ponta bidentada onde vem ter a ponta do dactilo; dactilo forte, pouco curvo, liso por fora e irregular por dentro. 1.º e 2.º pereopodos menores que os outros; 3.º, 4.º e 5.º pereiopodos com a base larga e serrilhada posteriormente, sendo o 5.º o maior.

Medidas — Do nosso exemplar n.º 2592: Antena 2,1mm, corpo: 6,8mm; total 9.9mm.

Distribuição Geografica — A *Melita setipes* foi descrita em 1851 com material capturado por Dana nas praias da Baia de Guanabara, entre as algas, na Enseada da Praia Grande, não longe do Forte. Esta especie foi colocada por Stebbing e por Della Valle em sinonimia com a *M. fresneli,* mas nós nunca encontramos nenhum anfipodo com a morfologia desta especie *fresneli* descrita atualmente no Egito, Oceano Indico e Australia.

Material examinado. — Nas aguas da Baia de Guanabara:

Cat. N.º 2593, entre a Enseada da Praia Grande e a Ilha do Engenho, 16 de julho de 1950; laminas 2593-2599. Cat. N.º 2821 — Manbéis de Fora, 17 de Setembro de 1950; sobre o ouriço *Lytechinus variegatus;* Cat. N.º 3421 — Praia de Maruí, Neves (Niteroi), 19 de Maio de 1949; em 1 lamina.

ANELASMOPUS novo genero (*)

Definição

Corpo não carinado, liso; cabeça sem rostro; I antena maior que a II, com flagelo acessorio de 2 articulos, II maxila de palpo com o 2.º articulo maior que o 1.º. Pleon com segmentos não coalecidos; os seus segmentos 1.º, 2.º e 3.º tem uma fileira de 8 espiculos; pleopodos sempre com 2 ramos; 3.º uropodo com 2 ramos; sendo ele de tamanho menor que o 2.º Telson dividido em dois.

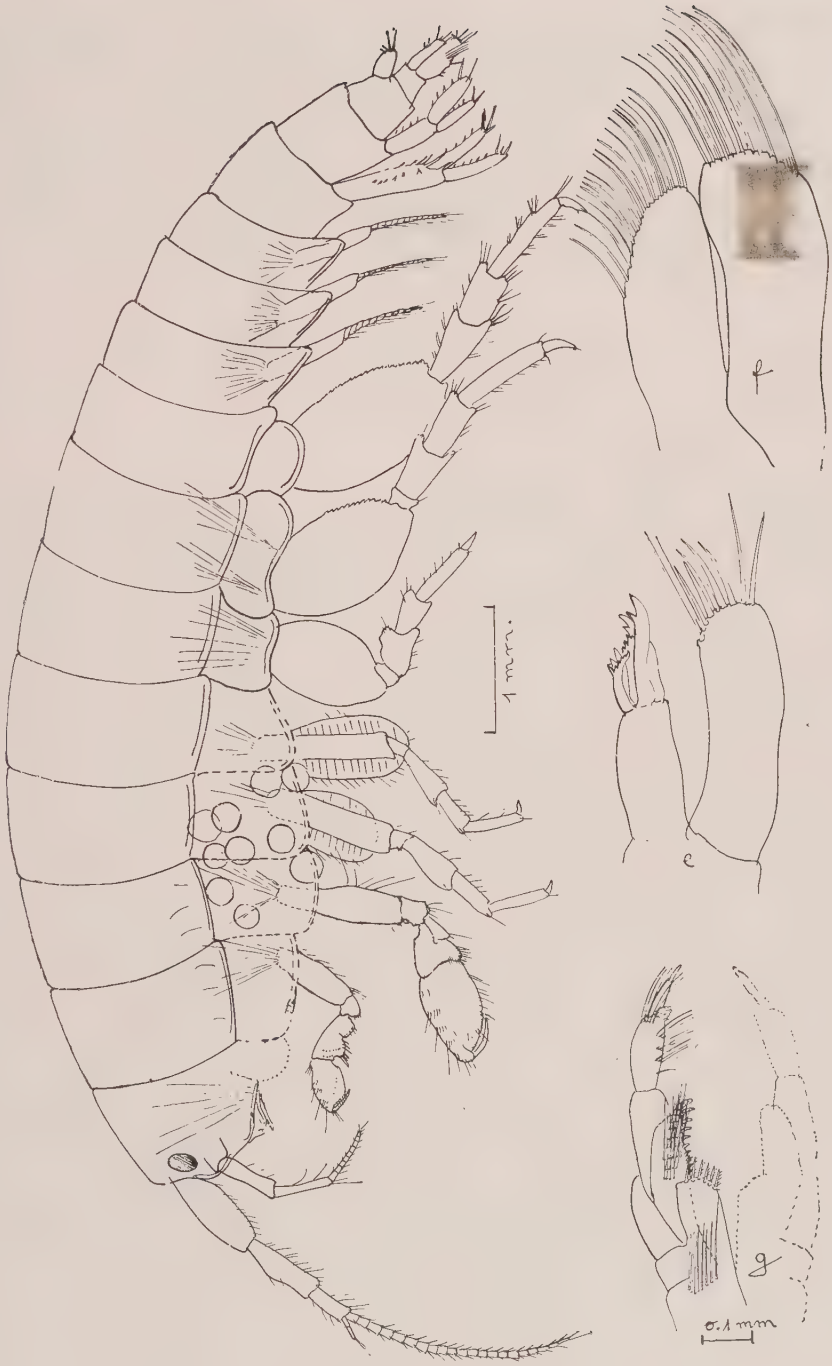
Este genero foi creado para um material da Baía de Guanabara, de agua salobra. Não o conseguimos colocar entre os *Gammaridae* de habitat maritimo. O Dr. Schellenberg dividiu os generos de *Gammaridae* de agua doce em dois subgeneros: *Gammarus* e *Cangronyx;* neste subgenero *Congronyx* o nosso genero *Anelasmopus* se encaixa porque apresenta os caracteres que são:

Subgenero *Cangronyx:*

"I antena de flagelo acessorio pequeno rudimentar ou consistindo de um articulo maior e outro menor; I e II gnatopodos subquelados, geralmente muito semelhantes e muito eguais no macho e na femea,

* Ao genero de A. Costa-ELASMOPUS, acrescentamos o prefixo AN.

ESTAMPA 8



palmas armadas com espinhas numerosas, (excepto no I gnatopodo de *Metaniphagus*); urosoma com os segmentos livres ou coalecidos; e sem espinhas dorsais; urosoma com os segmentos livres ou coalecidos; e sem espinhas dorsais; uropodo 3 geralmente reduzido e o ramo interno quando presente curto ou escamiforme; vesiculas branquiais presentes ou ausentes telson inteiro, ou incidido profundo ou fracamente."

Entre os generos do subgenero *Cangronyx* ficaria junto aos que não tem segmentos do urosoma coalecidos, mas não se assemelha totalmente a nenhuma dos generos já descritos habitando aguas doces.

Este novo genero foi creado para a nova especie:

ANELASMOPUS KRAUI n.sp.
(Estampa VIII, IX)

Descrição — Femea.

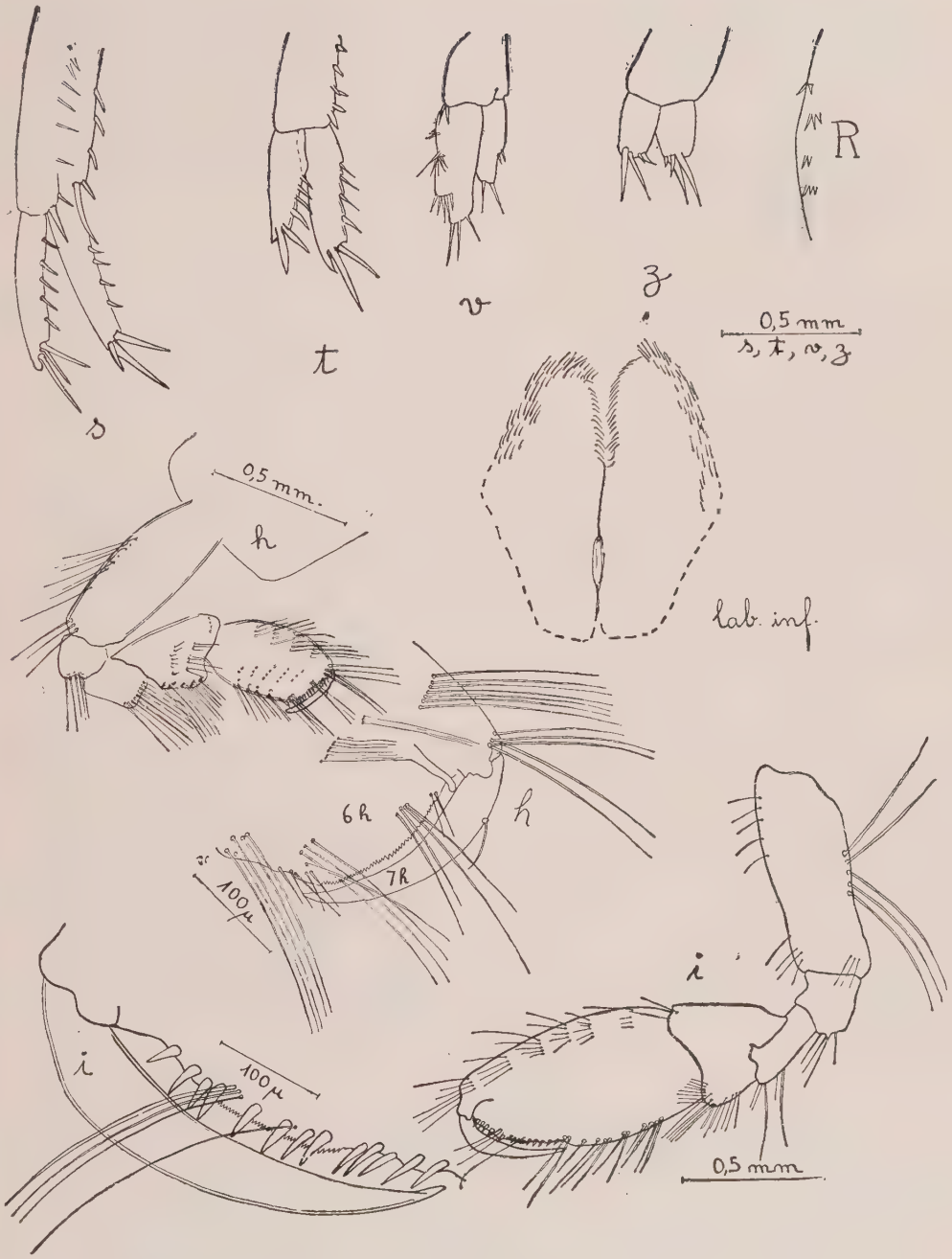
Cabeça sem rostro. Olhos elipticos. I par de antenas cerca de 1/3 do comprimento do corpo, com pedunculo triarticulado, o 1.º articulo é o maior e o 3.º é o menor; flagelo acessorio biarticulado, flagelo principal longo, quasi do mesmo comprimento do pedunculo, com 21 articulos. II antena alcança somente o pedunculo da I; o seu pedunculo é triarticulado, 2.º e 3.º articulo grandes, iguais em comprimento, cerca do dobro do 1.º articulo; flagelo de 9 articulos.

Mandibula com molar normalmente desenvolvido, processo acessorio não muito proeminente, palpo com 3 articulos, sendo o ultimo articulo serrilhado e cerdado.

I maxila com a lamina interna com 11 cerdas, lamina externa com 5 espinhas serradas de 2 até 5 dentes sendo a mais externa serrada a 1 dente maior e 9 dentes menores. A II maxila tem a lamina interna com cerca de 16 cerdas formando uma franja, lamina interna com franja de 15 cerdas na ponta e mais obliquamente 4 cerdas mais espaçadamente. Maxilipodo com a lamina interna basal retangular tendo na superficie externa do basipodo 2 grupos de cerdas lisas, grandes e longas: um mais interno de 3 cerdas outro mais externo de 5 cerdas. Segunda lamina do maxilipodo (endopodito do isquio ou do 3.º articulo) internamente com 7 espinhos fortes e cerdas distalmente com 7 cerdas. Palpo de 4 articulos, antes do dactilo ha uma saliencia arredondada rugosa. Labio inferior (muito esquematicamente desenhado) sem lobos laterais. I gnatopodo menor que o II, apresenta o 2 articulo longo com margem posterior a 4 cerdas e angulo postero-distal cerdado; isquio curto; mero pequeno quadrado, parcialmente fusionado com o carpo que é conico, cerdado nas margens e na superficie; propodo eliptico, margem anterior com uma protuberancia junto a articulação do carpo onde se inserem cerdas lisas, depois 5 carreiras de cerdas até a articulação do dactilo. Margem com a qual o dactilo se articula obliquamente cortada apresenta-se serrilhada e cerdada (6, 7 h, Est. 9).

Dactilo liso, recurvo, com uma cerda no terço superior externo.

ESTAMPA 9



II gnatopodo maior que o anterior: o basipodito (2.º articulo) é longo e largo; 3.º articulo curto; 4.º articulo retangular; 5.º articulo (=mero) triangular com o canto postero-interno arredondado muito fortemente cerdado; 6.º articulo ou palma eliptica alongada, sua superficie cerdada, apresentando 7 grupos de cerdas indo á margem anterior; vêm-se 7 grupos de cerdas tambem na margem posterior; uma parte da margem onde o dactilo se articula tem 13 espinhos grandes na disposição 4-1-3-5; do 4.º ao 9.º espinho a superficie é serrilhada; grandes cerdas lisas junto ao 4.º espinho e ao 7.º.

Dactilo liso.

I pereopodo quasi igual ao II, o III pereopodo é mais curto que os IV e V, que apresentam o 2.º articulos muito expandidos, a margem denteada posteriormente. 1.º, 2.º e 3.º segmentos do pleon com cantos fracos, mas no 3.º ha espinulos marginais. Pleopodos biramosos.

Urosoma apresentando: 1.º uropodo com espinhos na face, e os ramos externos e internos muito semelhantes: 5 espinhas laterais, 3 espinhas terminais maiores.

2.º uropodo menor que o 1.º, o seu ramo externo é maior, 4 espinhas externamente, 2 obliquas, 1 recurva terminalmente; o seu ramo interno em tudo menor, menor tem aspecto analogo, mas sem a recurva. 3.º uropodo de ramos externos maior com varios grupos de cerdas laterais: 2, 4, 5, e terminais 5; ramo interno a 2 cerdas laterais e 4 terminais.

Telson dividido em 2, os ramos são quasi quadrados cada um com 2 cerdas grandes e 2 cerdas pequenas terminais.

OVOS. — espericos, medindo 250 micra, 34 ovos para a femea-tipo.

NOTA — O desenho da figura de corpo inteiro não é de confiança absoluta no que refere a 2.ª, 3.ª e 4.ª placa lateral, estão pontuadas por este motivo.

MATERIAL — Baia de Guanabara, 22°50.5' Lat. S., 43°06.3' W.G., Ilha do Engenho — de Maio de 1950 Agua de regime mesohalino, dragagens a 3 m. fundo pelo Sr. Francisco Pinto e Sr. Porsino da Silva

TIPO — Femea Cat. N.º 2630, foi desmontada e seus apendices acham-se nas laminas: 2630, até 2638, da Estação de Hidrobiologia. Especie dedicada á Professôra Luiza Krau, assistente da Estação de Hidrobiologia quem nos separou este Amphipoda do material das dragagens.

Familia Talitridae

Cabeça sem um rostro pronunciado, as peças bucais projetam para baixo; as placas laterais 2, 3, e 4 são relativamente grandes a 5.ª sendo bilobada.

I antena geralmente muito mais curta que a II, sem flagelo acessorio. O articulo basal da II antena está coalecido com a cabeça. Labio superior largo, arredondado distalmente, com a linha mediana geral-

mente proeminente; labio inferior sem lobos internos. Mandibula sem palpo, normal. I maxila, de placa interna delgada, com 2 cerdas plumosas no ápice, placa externa com 9 espinhas apicais palpo uni-articulado, pequeno, desde rudimentar até de comprimento alcançando a base das espinhas da placa externa.

II maxila: ambas as laminas com franja apical de cerdas espinhosas delicadas, sendo que a lamina interna está guarnecida de uma seta plumosa na sua margem interna.

II° gnatopódo, no macho, fracamente quelado, ou mais geralmente fortemente quelado. Na fêmea o I e II gnatópodos são fracamente quelados. Uropodo III com um só ramo.

CHAVE PARA OS GENEROS

(os assinalados com (+) não foram verificados no Brasil)

1. — 3.° pleopodo degradado, Pleopodos 1.° e 2.° com o ramo interno reduzido a um simples tuberculo; terrestres, do interior ..(+)
1a. — 3.° pleopodo normal 2
2. — 4.° articulo do palpo do maxilipodo ausente 3
4.° articulo do palpo do maxilipodo presente 6
3. — sendo ausente ou rudimentar, de gnatopodo I simples no macho 4
idem, de gnatopodo I subquelado no macho 5
4. — 2.° gnatopodo fracamente quelado no macho: TALITRUS
2.° gnatopodo fortemente subquelado no macho ..... ORCHESTOIDEA
5. — Gnatopodos I subquelados na femea e no macho. Gnatopodo II subquelado fortemente no macho, e fracamente quelado na femea ..... ORCHESTIA
Gnatopodo I subquelado no macho, simples na femea.
Gnatopodo II fortemente subquelado no macho, e fracamente quelado na femea ..... TALORCHESTIA
6. — 3.° uropodo uniarticulado .....(+)
3.° uropodo nunca uniarticulado 7
7. — 3.° uropodo uniramado 9
3.° uropodo biramado 8
8. — generos não assinalados no Brasil .....(+)
9. — 4.° articulo do palpo do maxilipodo não sendo unguiforme ..... (*Parorchestia*) .....(+)
4.° articulo do palpo do maxilipodo unguiforme 10
10. — No macho, o 2.° gnatopodo apresenta o 5.° articulo:
a/ não lobado, ou parcialmente coberto pelos 4.° e 6.° articulos ..... HYALE
b/ entre o 4.° e 6.° articulos, como um lobo 11
11. — Telson indiviso ..... HYALELLA
Telson dividido ..... ALLORCHESTES

	I gnatopodo, Macho	II gnatopodo, Macho	I gnatopodo, Fêmea	II gnatopodo, Fêmea
Talitrus, Latreille	Simples	Fracamente quelado	Simples	Fracamente quelado
Orchestoidea Nicollet	Simples	Fortemente subquelado	»	» »
Talorchestia Dana	Subquelado	» »	»	» »
Orchestia Leach	»	» »	Subquelada	» »
Parorchestia Stebbing	»	» »	»	Subquelada

Quadro estabelecido por R. R. Burt, em 1934.

Orchestia Leach

Gammarellus Herbst 1793, vol. 2, p. 106.
non*(Orchestes* Illiger 1798 =*Coleoptera)*
Talitrus (part) Latreille 1802, vol. 3, p. 38
Talitrus (part Bosc 1802, vol. 1, p. 78.
Orchestia Leach 1814, vol. 7, p. 402
Scambala (propart) Leach 1847,
Scambala in White 1847, p. 86
Orchestes Maitland 1876, vol. 2, p. 11
Orchestia Stebbing 1888, vol. 29, p. 602
Orchestia Sars 1893, vol. 1, p. 24.
Orchestia Della Valle 1893, vol. 20, p. 494
Orchestia Holmes 1904, vol. 24, p. 466
Orchestia Sttebing 1906, vol. 21, p. 530
Orchestia Chilton 1909, p. 632
Orchestia Chilton 1916, p. 354
Orchestia Barnard 1932, p. 218
Orchestia Barnard 1940, p. 535

Orchestia

Pereon alargado dorsalmente, pleon comprimido. 1.ª placa lateral estreitada sendo a 5.ª larga e profunda, as vezes as 4.ª e 5.ª placas são ambas profundas. I antena mais curta que o pedunculo da II. II antena com o articulo ou os articulos basais soldados a cabeça sem glandula de cone; o ultimo articulo do pedunculo é o mais longo. Epistoma formando um angulo obtuso com o labio superior distalmente arredondado. Labio inferior com um tufo de setulas no canto interno dos lobos principais. I maxila com o palpo pequeno bi-articulado. Maxilipodo de palpo curto e largo, e 4.º articulo ausente ou rudimentar I gnatopodo no macho e na fêmea desenvolvido e subquelado (nunca é simples), e o II gnatopodo no macho e pubquelado fortemente. (Nunca chega a formar uma pinça como acontece no genero *Talitrus*).

O II pereopodo não tem um talho no dactilo tão profundo como no genero *Talorchestia*.

NOTA — Pudemos praticar o genero *Orchestia* com o material recebido do Instituto Oceanografico de Monaco, da especie *Orchestia chevreuxi* capturada em 1888 nos Açores. Este material está registrado na coleção da Estação de Hidrobiologia n.º 2909.

Orchestia platensis Kroyer 1845
(Estampas X, XI e XII)

Orchestia platensis Kroyer 1845, vol. 1, p. 504, t. 2, fig. 2.
Orchestia platensis Bate 1862, p. 19, tab. 3, fig. 3.
Orchestia crassicornis Costa 1867, vol. 4, p. 38.
Orchestia Agilis Smith in

Verril 1873, vol. 1, p. 555, +, 4, fig. 14.

Orchestia tiberiadis Lortet 1883, vol. 3, p. 190.
Orchestia incisimana Chevreux 1888, vol. 2, p. 346, t. 6, fig. 1, 2.
Orchestia Gammarelus (pro part) Della Valle 1893, vol. 20, p. 499.
Orchestia crassicornis Chevreux 1895, vol. 7, p. 154.
Orchestia platensis Stebbing 1906, vol. 20, p. 540.
Orchestia platensis
" " Barnard 1932, p. 218.
" " Shoemaker 1935, p. 241.
" " Barnard 1935, p. 288.
" " Schellenberg, 1938, vol. 71, p. 215.
" " Kunkel 1910, p. 63, fig. 24.
" " Schellenberg 1926, p. 371.
" " Schellenberg 1931, p. 61, fig. 1.

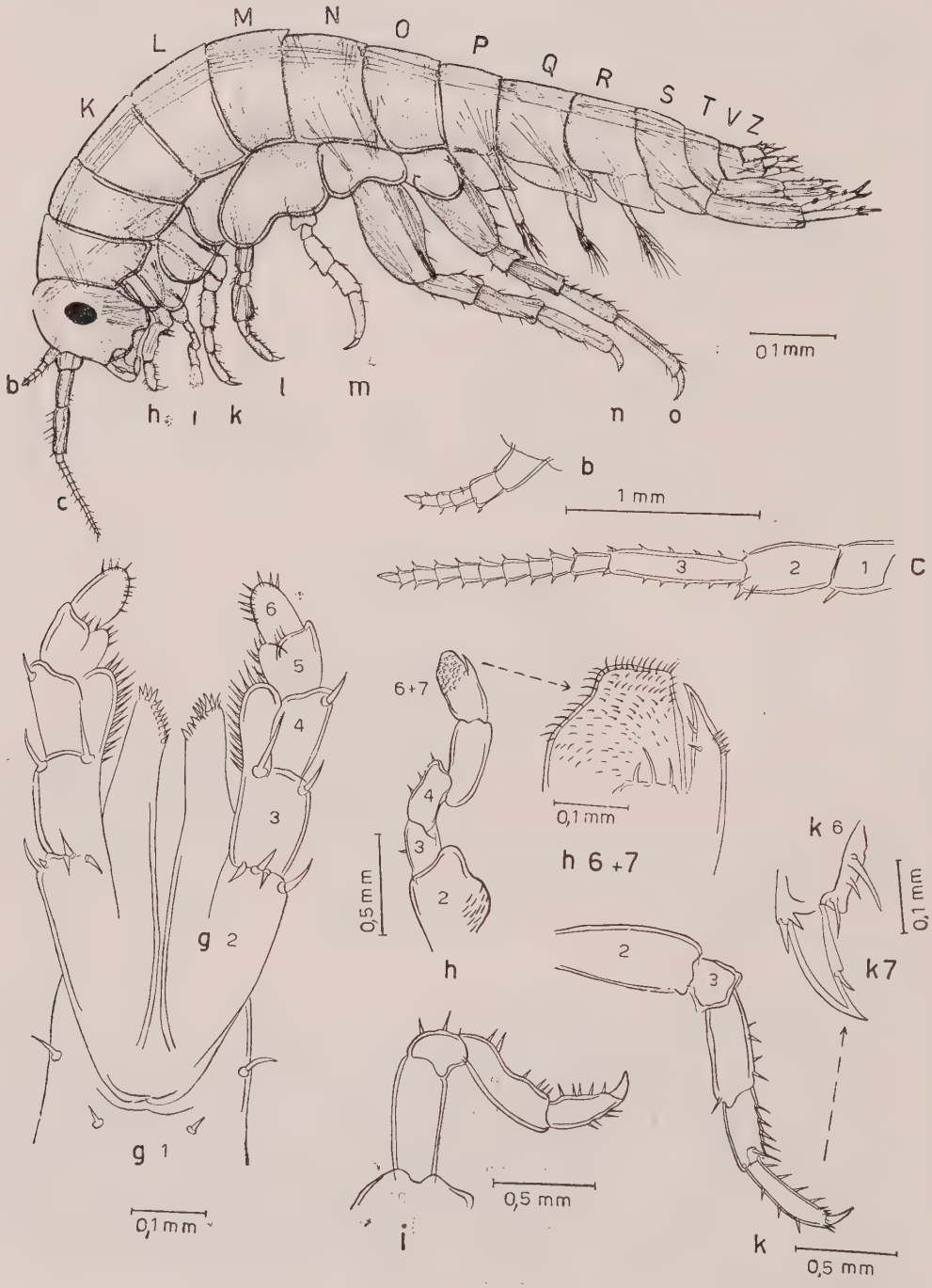
DIAGNOSE. — *Orchestia* de corpo liso, com espinhaços transversais, com a 2.ª antena forte de flagelo achatado; I gnatopodo do macho com o mero sem processo apical, o propodo ou palma com um lobo arredondado proeminente, piloso, em frente ao dedo livre; II gnatopodo do macho de palma ovoide, sem dente junto a articulação do dedo movel. O V pereiopodo tem o 2.º articulo normal, não expandido exageradamente.

DESCRIÇÃO

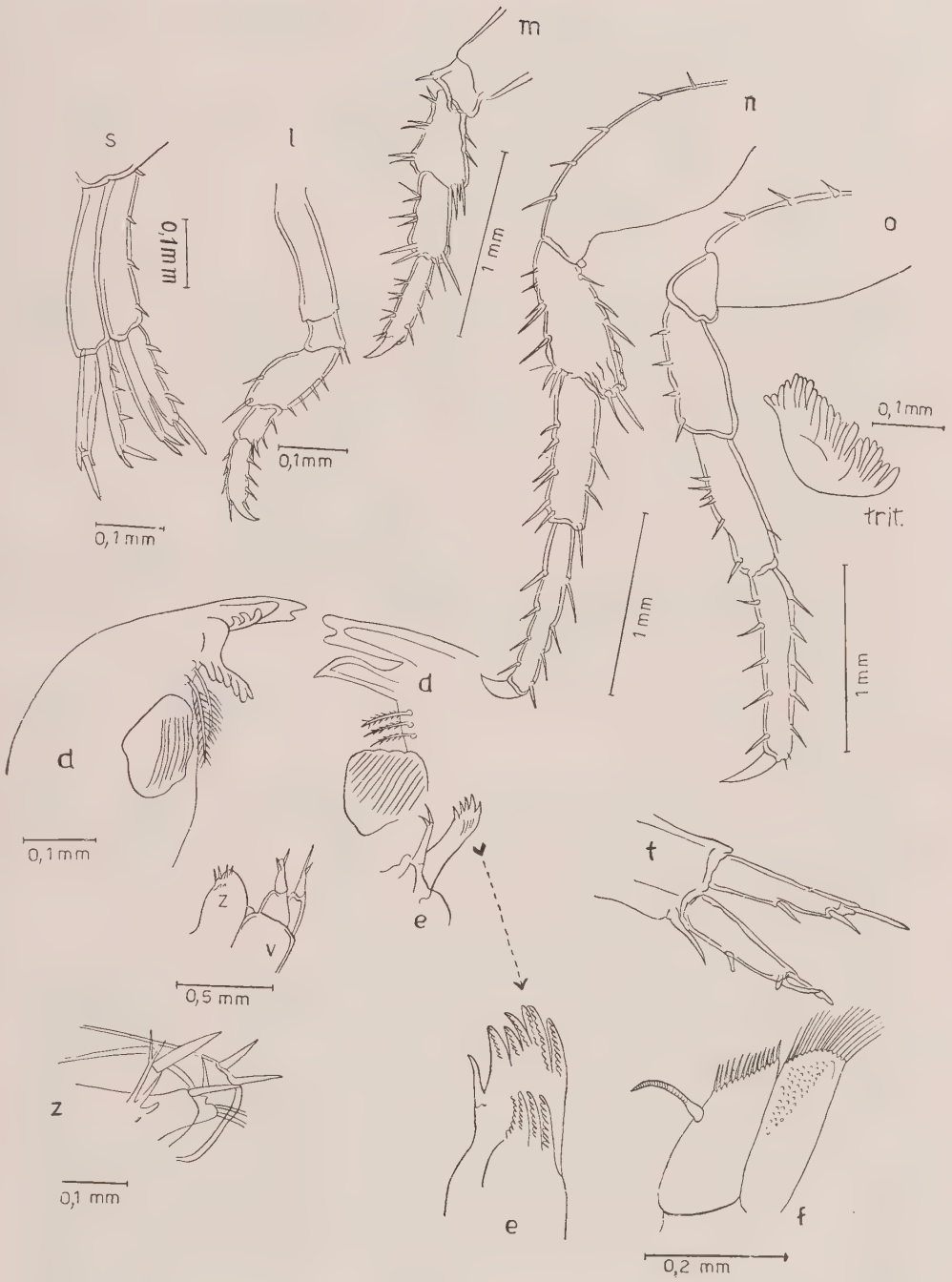
Para ambos os sexos: Corpo com o 3.º segmento do pleon de canto postero-lateral quadrado, margem superior serrilhada.

Olhos elipticos, pretos, mais estreitos no sentido do diametro maior do corpo. I antena escarçamente alcançando a articulação 2-3 do pedunculo da II antena. II antena menor que a metade do comprimento do corpo, pedunculo forte de ultimo articulo mais longo que o 1.º e o 2.º, o flagelo é mais curto que o pedunculo e vai se tornando conico, tem 12 a 15 articulos, sendo que os articulos do meio são mais grossos e mais longos que os de ambas as extremidades.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



ESTAMPA 11


m
n
o
s
l
0,1mm
1 mm
0,1mm
0,1 mm
0,1mm
trit.
1 mm
1 mm
d
d
0,1 mm
z
v
e
0,5 mm
t
z
0,1 mm
e
f
0,2 mm

Mandibula — A margem cortante da mandibula apresenta: um forte dente duplo precedido por 4 denticulos recurvados, uma fileira de 4 setas espinulosas. Tuberculo molar de face ovalada. (Não encontrei palpo na mandibula).

I maxila. — Lamina interna estreita com 2 setas plumosas no apice, lamina externa mais larga, distalmente tem 6 a 9 setas mais quitinisadas, mais amareladas bidenticuladas, isto é, com denticulos em dupla fila.

II maxila. — A lamina mais larga tem um palpo e é franjada com cerdas; a lamina mais estreita é franjada com duas carreiras de cerdas.

Maxilipodo: — Laminas internas longas. 2.º articulo de margem interna quasi reta, longa, com cerdas plumosas se entrecruzando com as do lado oposto, lobo interno do 2.º articulo distalmente com espinhos e cêrdas. Na articulação 2-3 tem 4 espinhos. Lobo interno do 3.º articulo franjado de cerdas. O 4.º articulo, ou mero do maxilopodo é o 1.º articulo do palpo, têm 1 cerda externo superior. Carpo do maxilopodo ou 2.º articulo do palpo, com pequeno lobo interno franjado.

6.º articulo semi ovoide.

II pereiopodo de dedo curto, recurvo abruptamente para cima.

III, IV e V pereiopodos com o mero largo. IV e V pereiopodos com o carpo tambem espesso, mas sem nenhum grande alargamento.

I Uropodo de espinhas apicais em ambos os ramos, e uma espinha marginal. II uropodo forte. III uropodo de ramo maior, mais curto que o pedunculo. Telson espinuloso.

CÔR. — Amarelos castanhos, pardos ou acinzentados oliva, próximo da côr da areia da praia ou dos lixos em que se encontram. Placas coxais azues.

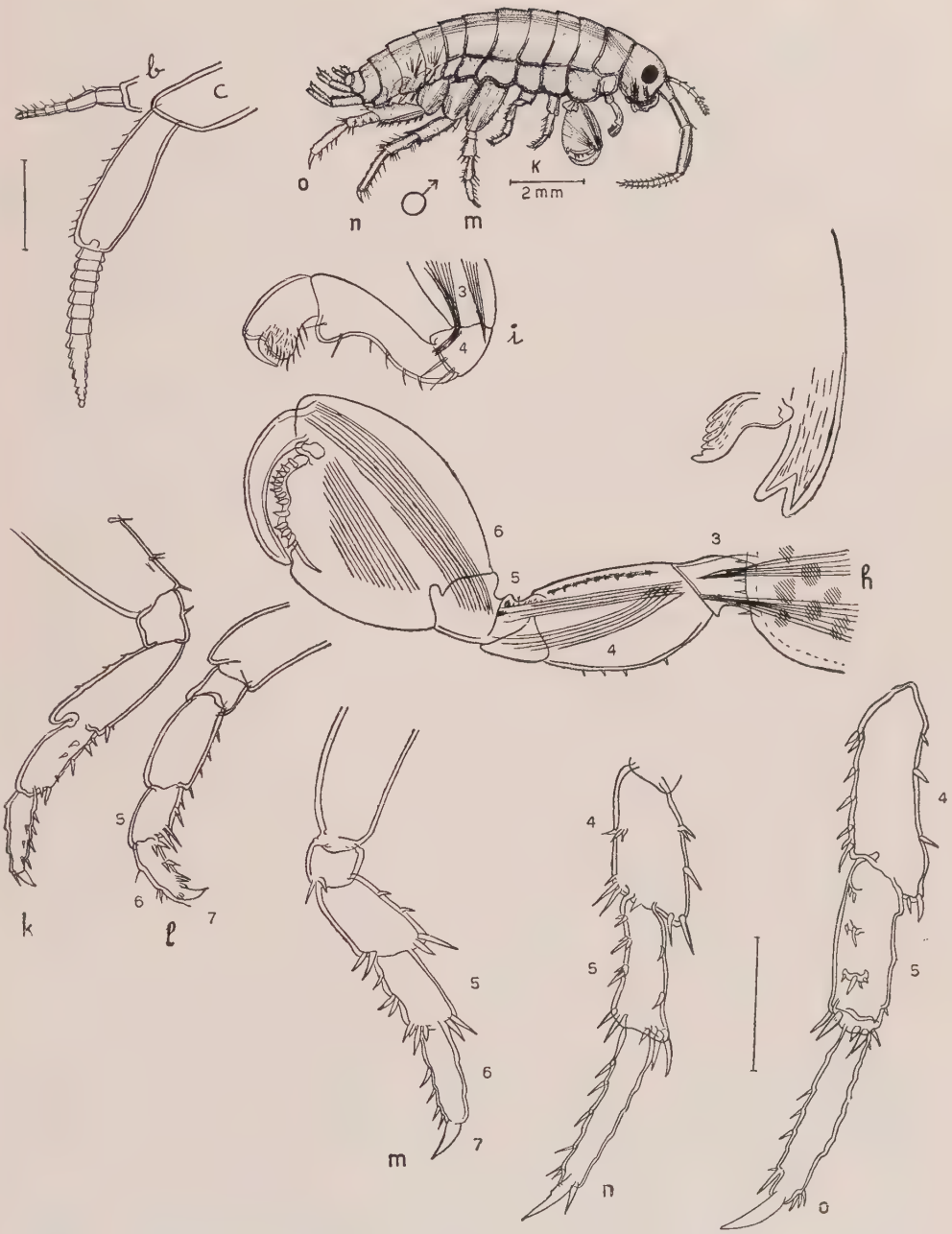
MACHO: — I gnatopodo de carpo e propodo fortemente alargados distalmente na margem posterior, o propodo forma um lobo semi-circular, piloso, do mesmo comprimento do dedo. O carpo tem tambem quasi um lobo, mas não chega a ser semicircular, não é piloso, apresentando só 2 cerdas lisas.

O conjunto das margens anteriores do datilo, propodo e carpo forma uma meia-elipse do centro para traz.

II gnatopodo com a base não alargada distalmente, o propodo é largo e ovoide. Articulação da palma com o dedo 1.º — é obliqua em relação ao eixo do ovoide do propodo; 2.º tem um convexidade larga espinulosa, contamos (no nosso exemplar tipo n.º 762) 12 espinhos, e duas ondulações nesta convexidade; 3.º tem um lugar onde se encaixa o dedo movel. Vesicula branchial do II gnatopodo sinuosa.

FEMEA. — II gnatopodo: com o 5.º articulo subapicalmente alargado; 6.º fracamente estreitado distalmente, e com uma palma fracamente desenvolvida que sobrepassa o dedo, fundido na palma (h—6+7) I gnatopodo com o 2.º articulo laminar, a expansão estreitando distalmente, o 5.º com a parte livre da margem posterior convexa, o 6.º não muito mais curto que o 5.º; o dedo pequeno é em unha fracamente obliqua.

ESTAMPA 12



MATERIAL

Estação de Hidrobiologia: N.º 293, 294 — Praia defronte a Escola de Pesca Darcy Vargas, Marambaia, Dr. J. C. Nogueira Penido capturou em 11 de Setembro de 1944.

Na Ilha do Pinheiro, na Praia do Sapoti, Baia de Guanabara, entre os detritos deixados na beira da praia, no espraiado: material numero 370-373, e 431-432 — Abril de 1946.

N.º 668-682 Capturado pela Dra. Luiza Krau em Outubro de 1948, e n.º 771-733 laminas montadas em Enecê; N.º 1280-1281 laminas montadas pelo metodo de Costa Lima N.º 2223. — Baia de Guanabara, Ilha d'Água, 28, Setembro, 1944, na areia. N.º 2646 — Macho, tubo com alcool, Ilha do Pinheiro 24 JUL 1950. N.º 2647 — idem 2646, tubo com mais de 100 especimes jovens, machos e femeas.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRAFICA: Rio de la Plata; Costa Atlantica da America do Norte: Bermuda: India Ocidentais: Mediterraneo; Açores; Tristão da Cunha; Congo Belga; Angola; Laguna Chilka em Bengala; Ilha S. Paulo do Arquipelago Maldivia; Brasil: — Itapessuna, municipio de Iguarassú; Ilha de Itamaraca, debaixo dos coqueiros, na areia; (Schellenberg, 1938). Ilha do Pinheiro-Baia de Guanabara. Fora da Lagoa de Maricá.

ORCHESTOIDEA Nicolet

Orchestoidea Nicolet 1845, vol. 3, p. 229.
Talitronus Dana 1850, vol. 9, p. 295
Megalorchestia Brandt 1851, vol. 9, 310
Megalorchestes Brandt 1851, vol. 9, p. 142.
Megalorchestia Stimpson 1851, vol. 6.
Talitronus Dana 1852, vol. 2, p. 202.
Orchestoidea Bate 1862, vol. , p. 10.
Orchestoidea Stebbing 1888, vol. 29, p. 231.
Orchestoidea Stebbing 1891, vol. 18, p. 328.
Orchestoidea Calman, 1898, vol. 11, p. 265.
Orchestoidea Stebbing, 1906, vol. 21, p. 527.
Orchestoidea Burt 1934, p. 182.
Orchestoidea Schellenberg 1938, vol. 71, p. 208.

Este genero apresenta varias especies distribuidas na America, que correspondem do mesmo modo, ao genero *Talitrus* "sensu stricto", na Europa, são algumas das pulgas da praia que vivem na areia humida, na terra de beira mar, pedras, nos lixos da linha do deixa.

No Oceano Pacifico ha varias especies americanas: *O. chilensis* Nicolet, *O. californiana* (Brandt), *O. tuberculata* Nicolet, *O. pugettensis* (Dana), *O. scabripes* Dana; no Oceano Atlantico a especie encontrada é a *Orchestoidea brasiliensis*.

CHAVE DA ESPECIE BRASILEIRA do GENERO *ORCHESTOIDEA*

1 — Corpo recoberto de dentes ou tuberculos, *O. tuberculata* e outras especies não brasileiras.
Corpo liso 2
2 — Olhos separados (varias especies não brasileiras)
2a — Olhos contiguos, o III pereiopodo apresenta-se curto, inchado, o seu carpo tem 2 espinhos especiais em bastonete, dactilo em contraforte: — *Orchestoidea brasiliensis*.

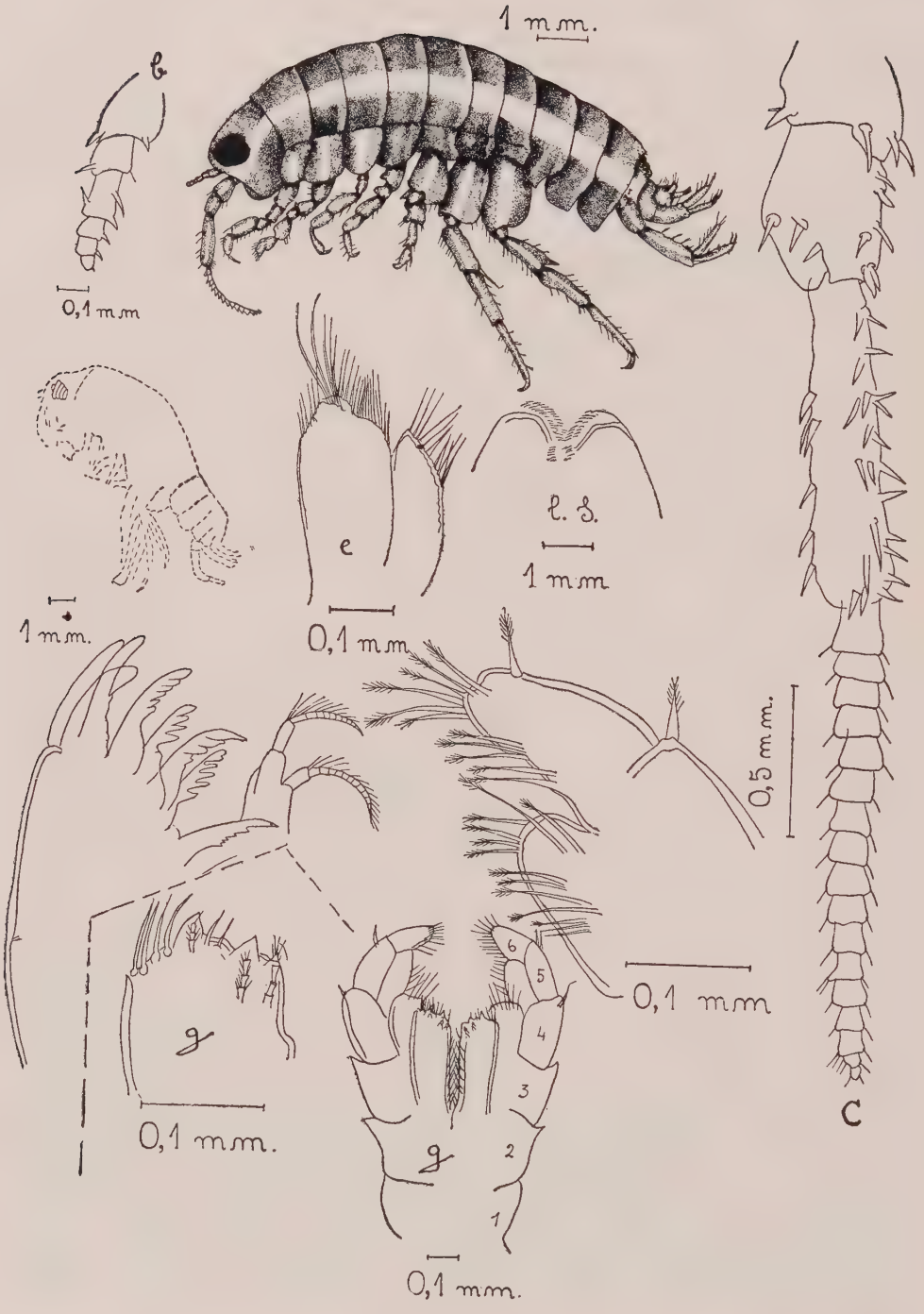
ORCHESTOIDEA BRASILIENSIS (DANA) Bates.
(Estampas XIII e XIV)

Orchestia (*Talitrus*) *brasiliensis* Dana 1852, vol. 13, p. 857, t. 57, f. 2a —h
Orchestoidea brasiliensis S. Bates 1862, p. 12, pl. II, fig. 4.
Orchestia gammarellus Della Valle 1893, vol. 20, p. 499.
Orchestoidea brasiliensis Stebbing 1906, p. 529.
Orchestoidea brasiliensis Schellenberg 1938, vol. 71, p. 209, fig. 3 a-i

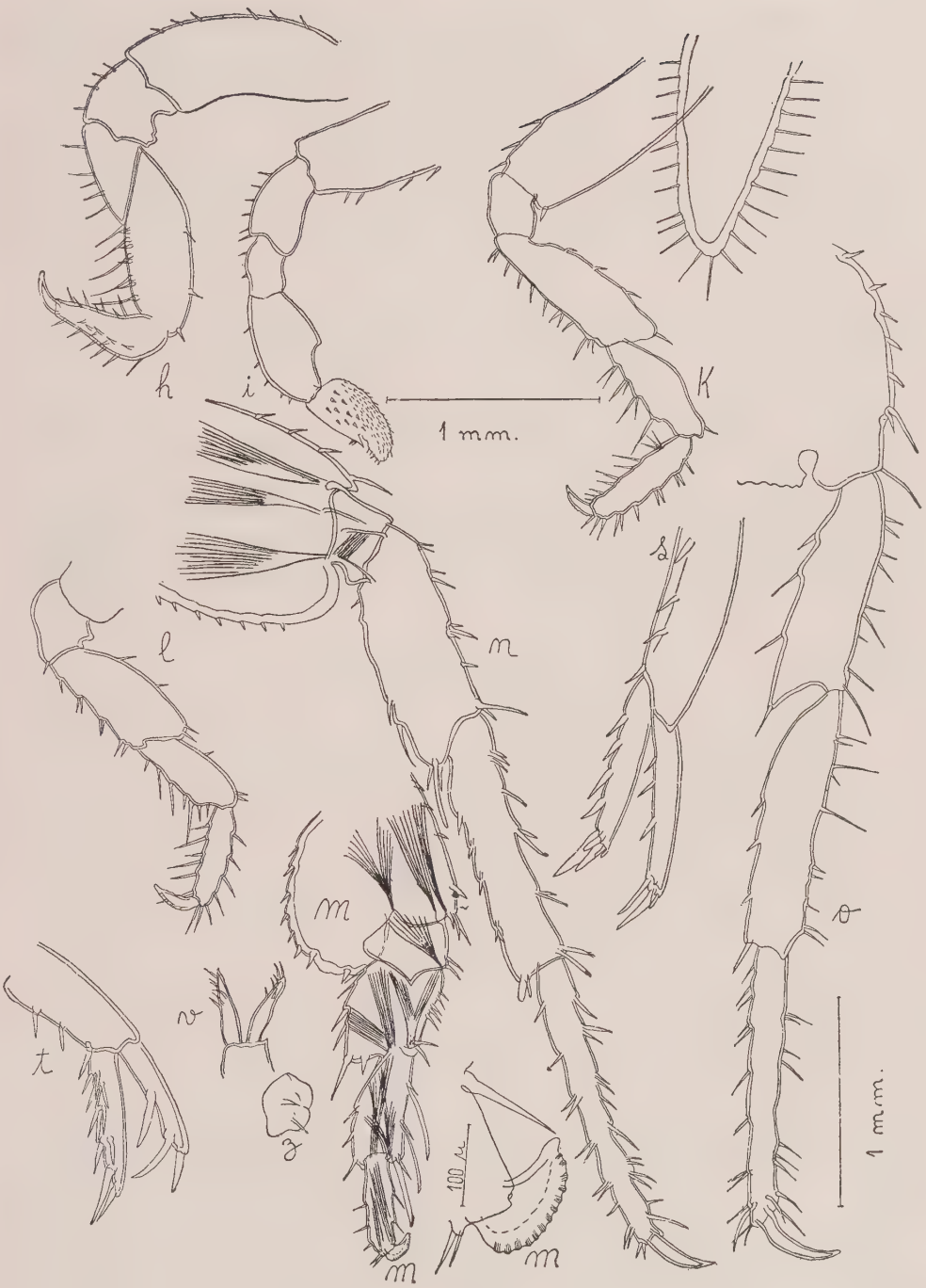
Corpo liso, de tegumento finamente desenhado, a 5.ª placa lateral muito mais raza que a 4.ª; o 3.º segmento do pleon com os seus cantos laterais quadrados. Olhos grandes aproximadamente contiguos na frente. I antena curta, de flagelo triarticulado, alcançando apenas até ao 2.º articulo da I antena. II antena na femea, não metade do comprimento do corpo, flagelo quasi tão longo quanto o pedunculo, com cerca de 16 articulos (15 — 17). I gnatopodo no macho igual ao da femea, que é muito semelhante ao da pulga da praia européa: *Talitrus saltator*. II gnatopodo do macho de propodo sub-oval e largo, palma fracamente convexa, espinulosa, muito obliqua, definida por um angulo bem marcado, mas não denteado; dactilo alongado.

Na femea — o I gnatopodo é maior que o II, tem o dactilo espesso recurvado, muito mais longo que o propodo, que é sem palma e mais longo que o carpo. O II gnatopodo tem a margem posterior inchada, e distalmente é mais estreitado, tem um dactilo pequeno longitudinal.

Em ambos os sexos: III pereiopodo é particularmente curto e inchado, isquio arredondado, carpo anteriormente e distalmente com 2 ou 3 espinhos especiais em bastonete, muito grossos e longos; dactilo curvo, curto, como um contraforte e em angulo reto com o articulo precedente, sua superficie é de feitio muito especial, para encostar no chão, com uma serie de calos e asperezas, (no nosso exemplar Cat. N.º 2945, com 13 calos), como uma groza. Os IV e V pereiopodos são muito mais longos que os outros, têm o 2.º articulo expandido e os restantes delgados; 2.º articulo do V pereiopodo é escavado inferiormente. Pleon esbelto, e dobradiço. Pleopodos não apropriados para a natação, curtos, e terminando em ramusculos pequenos e agudos. I uropodo é longo, nasce no seu somito S, que é bem mais estreito que o R (3.º somito


1 mm.
b
0,1 mm
e
0,1 mm
1 mm.
1 mm.
f. g.
1 mm
0,5 mm.
C
0,1 mm
g
0,1 mm.
6
5
4
3
2
1
g
0,1 mm.

ESTAMPA 14



pleonico), os ramos são pouco menores ou aproximadamente do mesmo comprimento que o pedunculo, o ramo interno leva 2 a 4 espinhos posteriores, 2 grandes e 2 pequenos na extremidade, ligeiramente recurvos; o ramo externo leva 2 a 3 espinhos na margem posterior e 2 — 3 na extremidade, que são ligeiramente encurvados. II uropodo pouco mais curto que o I, seu ramo interno é o mais grosso e maior, termina-se despontando agudamente, com espinhos maiores na extremidade distal. III uropodo muito pequeno, menor que o pedunculos dos uropodos anteriores, insere-se no somito V, onde está o telson, pequeno, arredondado, semicruciforme, de cada lado com 2 espinhos.

MEDIDAS — 12 mm. em media, (nosso exemplar 2937, o da figura das estampas 13 e 14 tem 14.2 mm da ponta da antena á do uropodo)

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA — Rio de Janeiro, na baia de Guanabara (Dana, 1851); Boa Viagem ao sul de Recife, e Barra do Serinhaem (Schellenberg, 1938); Marambaia (material do Museu Nacional); Rio de Janeiro e Lagoa de Maricá; Cabo-Frio. Jurujuba.

MATERIAL: 2937, 1 frasco, Praia de Maricá; N.º 2938 1 exemplar tirado do frasco 2937 e montado nas laminas 2939 — 2952. N.º 2985: Cabo-Frio, na Enseada dos Anjos, em 6 de Abril de 1951; capt. por Luiza Krau e José Porsino da Silva. N.º 1807: Cabo-Frio, Abril 1950, capt. por Lejeune de Oliveira.

HYALE Rathke, 1837

Hyale Rathke 1837, vol. 3, p. 377
Nicea Nicolet, Gay 1849, vol. 3, p. 237
Allorchestes (pro parte Dana 1852, vol. 2, p. 205
Galanthis Bate 1856, p. 57
(non *Galanthis Molusca* Gist.)
Galanthis Bate 1857, vol. 19, p. 136.
Hyale Stebbing 1876, vol. 17, p. 337.
Hyale (*Hyale*) Wresnidwski 1879, vol. 2, p. 201.
Hyale Stebbing, 1888, vol. 29, p. 171.
Hyale Sars 1890, vol. 1, p. 26.
Hyale Stebbing 1906, vol. 21, p. 559.
Hyale Della Valle 1893, vol. 20, p. 517.
Hyale Barnard 1940, vol. 32, p. 535-537.

A 4.ª placa lateral é muito mais profunda que a 5.ª. A 1.ª antena é mais longa que o pedunculo da 2.ª antena. I maxila palpo de um articulo. Maxilipodo com palpo de 4 articulos, a ponta em forma de unha.

Gnatopodo II no macho com o carpo pequeno quasi soldado com o mero. Gnatopodo II na fêmea com o carpo entre o mero e o propodo. Uropodo 3.º uniramoso. Telson dividido.

Chave para as especies brasileiras do genero *Hyale*, do Rio de Janeiro

1. — Olhos reniformes:

H. graminea

(especie de 10-14 mm)

1A. — Olhos não reniformes 2

2. — No 2.º gnatopodo do macho, o dedo é tão grande quanto a palma. Especie de 4 mm:

H. macrodactyla

2A. — No 2.º gnatopodo no macho o dedo é mais curto que a palma. O 1.º gnatopodo tem no carpo 1 lobo com cerca de 9 cerdas na margem anterior e outro lobo com 2 cerdas posterior e distalmente:

H. média

(de 6-12 mm).

A *Hyale macrodactyla* que foi encontrada em S. Thomás, e no Rio de Janeiro apresenta o 3.º segmento do pleon com os cantos laterais quadrados, pouco salientes. I antena de pedunculo curto, 1.º articulo de comprimento igual ao 2.º + 3.º, flagelo de 13 articulos. II antena mais longa que a metade do corpo, ultimo articulo do pedunculo mais longo que o penultimo, o seu flagelo é de 25 articulos.

O II gnatopodo tem a palma eliptica alongada, com a margem em que o dactilo se articula quasi reta e no terço distal, esta margem é toda franjada com cerdas; dactilo grande, quasi reto, quasi do mesmo comprimento da palma. Telson fendido na base.

Outra especie carioca ou fluminente é a *Hyale prevosti,* assinalada no Rio de Janeiro por Dela Valle em 1893, na pag. 522.

Imaginamos pois que esta citação esteja errada porque este autor colocou em sinonimia a especie *Hyale graminea* (Dana)=*Hyale prevosti* (M. Edward)

Vejamos pois como a *Hyale graminea* muito se diferencia da *Hyale prevosti,* das quais citaremos alguns caracteres:

A *Hyale graminea* capturada em 1852 no Rio de Janeiro apresentava:

"Olhos reniformes. I antena 1 2/3 do comprimento da II antena, flagelo delgado, de cerca de 14 articulos. II antena menor que a metade do comprimento do corpo, flagelo grande, muito mais longo que o pedunculo, articulos oblongos. II gnatopodo de propodo estreito, fracamente mais alargado no meio, dactilo longo, forte, terminando pelo meio da margem posterior; palma setosa, muito obliqua, não é convexa, dificilmente definida da curta margem posterior.

Corpo pintado de verde e amarelo, patas parcialmente carmin.

Comprimento: 12-14 mm." segundo Dana.

Na especie do Atlantico Norte, a especie *Hyale prevosti:*

"Olhos pequenos, redondos, negros; mas ovais na variedade *major.* I antena alcança alem do pedunculo da II antena de flagelo de 10

articulos, II antena de flagelo de 15 articulos. II gnatopodo no macho tem um dactilo recurvo, robusto mais alargado proximalmente; sua margem frontal é muito convexa, este dactilo fecha entre 2 fileiras de cerdas e termina em uma cavidade na palma onde ha 2 espinhos. Os 4.º e 5.º pereiopodos tem espinhos em bastonete, Telson dividido em dois lobos obtusos. Comprimento: 6-8 mm."

Nós não encontramos ainda a especie dragada por DANA no Rio de Janeiro.

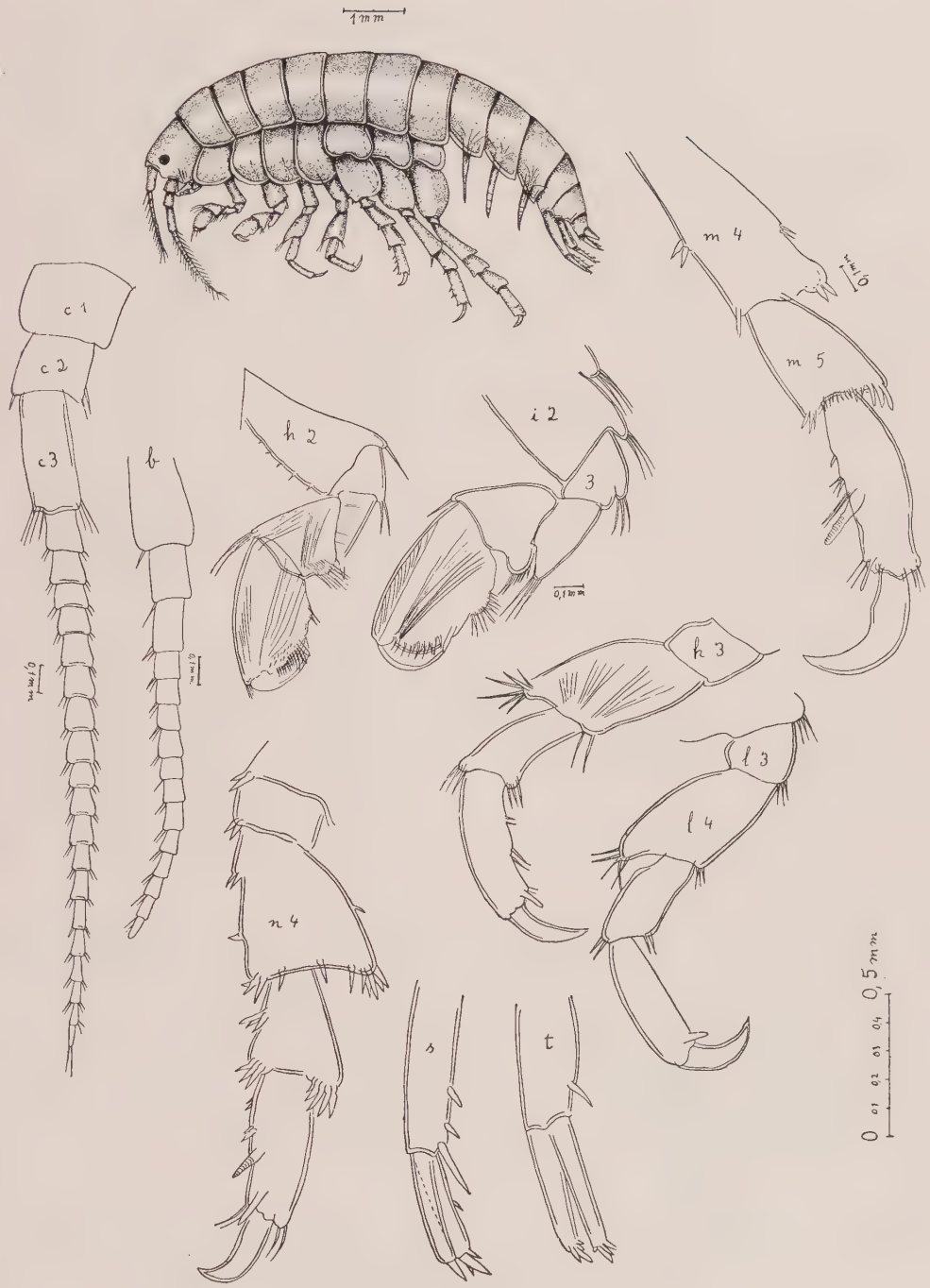
Ha mais uma serie de caracteres que podem ser consultados nos trabalhos de DELA VALLE onde ha uma figura da *Hyale prevosti* de corpo inteiro na sua Tab. 2, o macho grande de côr verde segurando uma fêmea menor acastanhada, e na Tab. 16, os apendices; assim como a fig. de Chevreux nos "Resultados das Campanhas do Principe de Monaco" Acreditamos, que se os varios autores que tivessem tido material de *Hyale* dos Rio de Janeiro e assinalado a *Hyale prevosti,* deveria ser ou a *Hyale graminea* que caira erradamente em sinonimia, ou então deveria ser uma especie que tem alguns caracteres parecidos com a *Hyale prevosti* do Atlantico Norte e mares adjacentes, que passaremos agora a descrever como nova especie.

A nova especie damos o nome de *Antares,* a estrela que estava passando no meridiano durante a captura deste material na Excursão feita com o Prof. PIÈRE DRACH á Ilha do Francez, Lat. S. 22°25' Long. W.Green. 41°43', entre algas *Cladophora* a beira-mar, em 21 de Maio de 1948, a bordo do Navio Hidrografico Rio Branco:

HYALE ANTARES nova especie
Ests. XV e XVI)

Corpo liso. Cabeça recurva antero-inferiormente. Olhos pequenos. Placas laterais com as margens inferiores lisas, sendo a 4.º muito mais alta que todas as outras, a 5.ª placa é bilobada, a 6.ª e 7.ª são pequenas. Pleon liso, o 3.º segmento de cantos obtusos arredondados. I antena mais curta que a outra, alcança pouco alem do pedunculo da II, seu pedunculo é 3 — articulado, tem como maior o 1.º articulo; flagelo de 12 articulos. II antena com 1/5 do comprimento do corpo, pedunculo de 3 articulos, flagelo de 19 articulos. Labio superior formando um angulo obliquo (ls., Est. 16), é relativamente simetrico, e piloso. Mandibula — com processo incisivo (pr. inc.) formado por 6 ou 7 dentes, sendo estes com 2 pontas; 6 espinhas incisivas (esp., Est. 16) sendo uma bidentada; 3 cerdas denteadas (cer., Est. 16) O tuberculo molar (mol.) formado de mais de 20 tuberosidades é bem desenvolvido; II maxila de laminas internas franjadas de cerdas ciliadas e lamina externa de cerdas mais longas. Maxilipodo de lamina interna do basipodito muito desenvolvida, retangular, armada de 4 espinhas odontoides; chega ao nivel da lamina do isquio que é ovoide e ciliada; mero pouco menor que o carpo que possue cerdas internamente e 1 espinho distal-externo, propodo subconico de onde sai o dactilo unciforme.

ESTAMPA 15



I gnatopodo de propodo eliptico, com um dactilo que se fecha sobre uma margem franjada e termina proximo a 2 espinhos; carpo em parte soldado ao mero, sua extremidade antero-distal leva um prolongamento onde 2 cerdas se inserem sua margem posterior uma ligeira elevação franjada, margem que o separa do mero como uma linha quasi reta em que houve sutura. Isquio com 2 saliencias posteriormente, de cada uma saindo cerdas.

II gnatopodo pouco maior que o I, de feitio aproximadamente análogo ao I; o propodo é tambem eliptico, mas sua margem anterior é mais reta e a posterior inferiormente é mais arqueada para o encaixe do dactilo que termina pouco antes de uma elevação arredondada onde ha varias cerdas; carpo triangular distal anteriormente com 1 cerda, distal posteriormente com lobos de 3 cerdas maiores; se articula lateralmente com mero, que é trapezoidal tem 3-4 cerdas na ponta distal; isquio triangular, face não articular com uma protuberancia com 4 cerdas; base com 2 protuberancias cerdadas.

Pereiopodos do grupo médio isto é I e II, menores que os do grupo posterior tendo estes o basipodito dilatado em forma de escama; I pereiopodo com o 4.º articulo, o méro, com uma dilatação distal onde se implantam 6 cerdas, é articulo largo; propodo tendo distalmente um espinho pouco maior entre cerdas junto ao dactilo.

II pereiopodo analogo ao I mas com o espinho do propodo maior.

III pereiopodo com o mero alargado distalmente tendo em cada ponta um grupo de espinhos; carpo com 2 grupos de espinhos na margem anterior: 1 grupo no meio outro grupo distal posterior inplantado em um lobo arredondado; propodo com 1 grande espinha serrilhada em bastonete lateralmente, e 2 espinhas lisas distalmente; dactilo em unha recurvo.

IV pereiopodo analogo ao III mas o dactilo tem uma elevação arredondada no meio.

Pleopodos com pedunculos cilindroides, sendo que o I pleopodo apresenta 2 botões em forma de cogumelo (bt, Est. 16) o II pleopodo é mais curto que o I e o III é o mais curto e grosso.

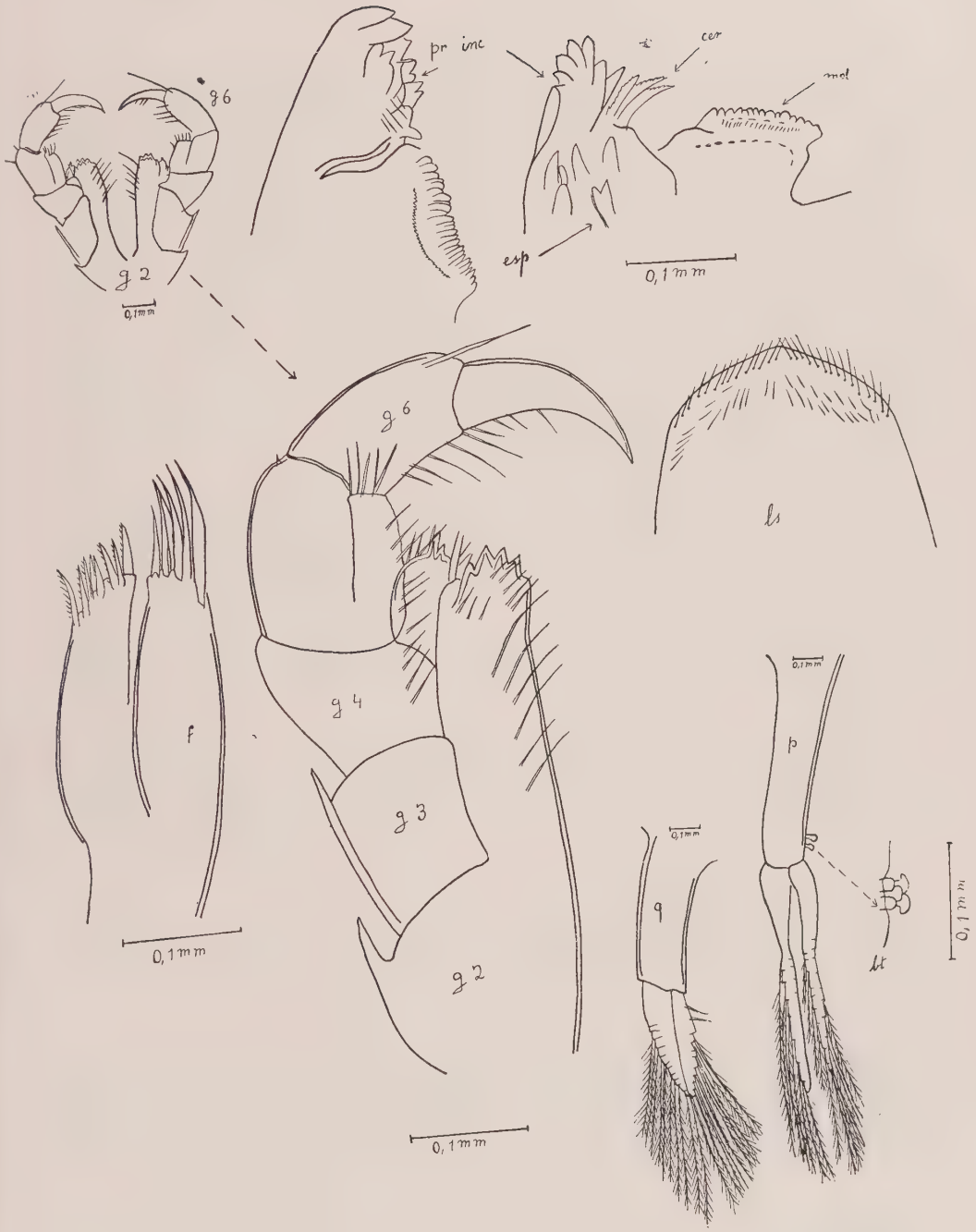
I uropodo de tipo normal, com 2 espinhos pequenos laterais no pedunculo e um na articulação com os ramos, que apresentam: ramo externo pequeno, 1 grande espinho posterior entre 2 pequenos; ramo interno: 1 espinho posterior.

II uropodo: no pedunculo 1 espinho externo, nos ramos 4 espinhos posteriores.

III uropodo com 2 articulos, 2 espinhos internos no pedunculo e no ramo 2 espinhos posteriores, 1 espinho postero-lateral.

Telson triangular, extremidade arredondada, com 2 cerdas.

ESTAMPA 16


g6
g2
0,1mm
pr inc
cer
mol
esp
0,1mm
g6
ls
f
g4
g3
g2
0,1mm
0,1mm
p
0,1mm
q
lt
0,1mm

Hyale média Dana 1852

(Est. 17)

As placas laterais 1-5 são largas, não profundas. Segmento 3 do pleon com os cantos postero-laterais quadrados, escarços. Olhos ovoides, elipticos ou redondos. I antena de pedunculo curto flagelo de 10-14 articulos (b. Est. 17). II antena o ultimo articulo do pedunculo é mais longo que o penultimo, e tem uma franja de cerdas distalmente, segue um flagelo de 16-22 articulos. O 1.º gnatopodo no macho (h, Est. 17), tem o 2.º articulo se alargando distalmente; o carpo apresenta um lobo franjado arredondado, e distalmente oposto a este, outro lobo cerdado com 2 a 3 cerdas; propodo ovoide, com 2 espinhas recurvas no 1/3 distal, e com margem franjada a poucas cerdas, 2 espinhas em groza, datilo recurvo, curto. O 2.º gnatopodo apresenta o mero espessado distalmente, terminando em 1 ponta e 1 espinha afilada; o carpo recurvo em angulo reto com 1 ponta afilada recurva; a palma ovoide, apertada, tem 1 sulco e uma carreira de 9 espinulas; o dactilo é curto recurvo, e não se dobra em pinça.

Pereiopodos 1-5 robustos, apresentam setas internas, minusculas e 1 espinha serrilhada em groza nos propodos, sendo que nos pereiopodos 3-5 é sub-mediana; no apice ha 1 espinha lisa curva o dactilo.

Pereiopodo 3 e 5 com o 2.º articulo arredondado, sendo no pereiopodo 5 muito largo; 2.º articulo do pereiopodo 4 oblongo.

Pleopodos com 2 ganchos em "chapeo de cogumelo" (p. Est. 17). antes dos 2 ramos. Uropodos 1 e 2 relativamente curtos (s, t.); uropodo 3 de ramo tão longo quanto o pedunculo.

MEDIDAS — Macho 2320: — 13 mm.

Habitat — Lat. S. 22º25' por 41º42' W. Greenwich, Capturado na Ilha do Francez pelo Prof. Pièrre Drach, a bordo do Navio Hidrografico Rio Branco, em 15 de Maio de 1948. Entre algas do genero *Chaetomorpha*.

Distribuição Geografica

Oceano Atlantico, Baia do Rio de Janeiro, Ilha Virginia, S. Thomas; Ilha de Cabo Verde; Terra del Fuego.

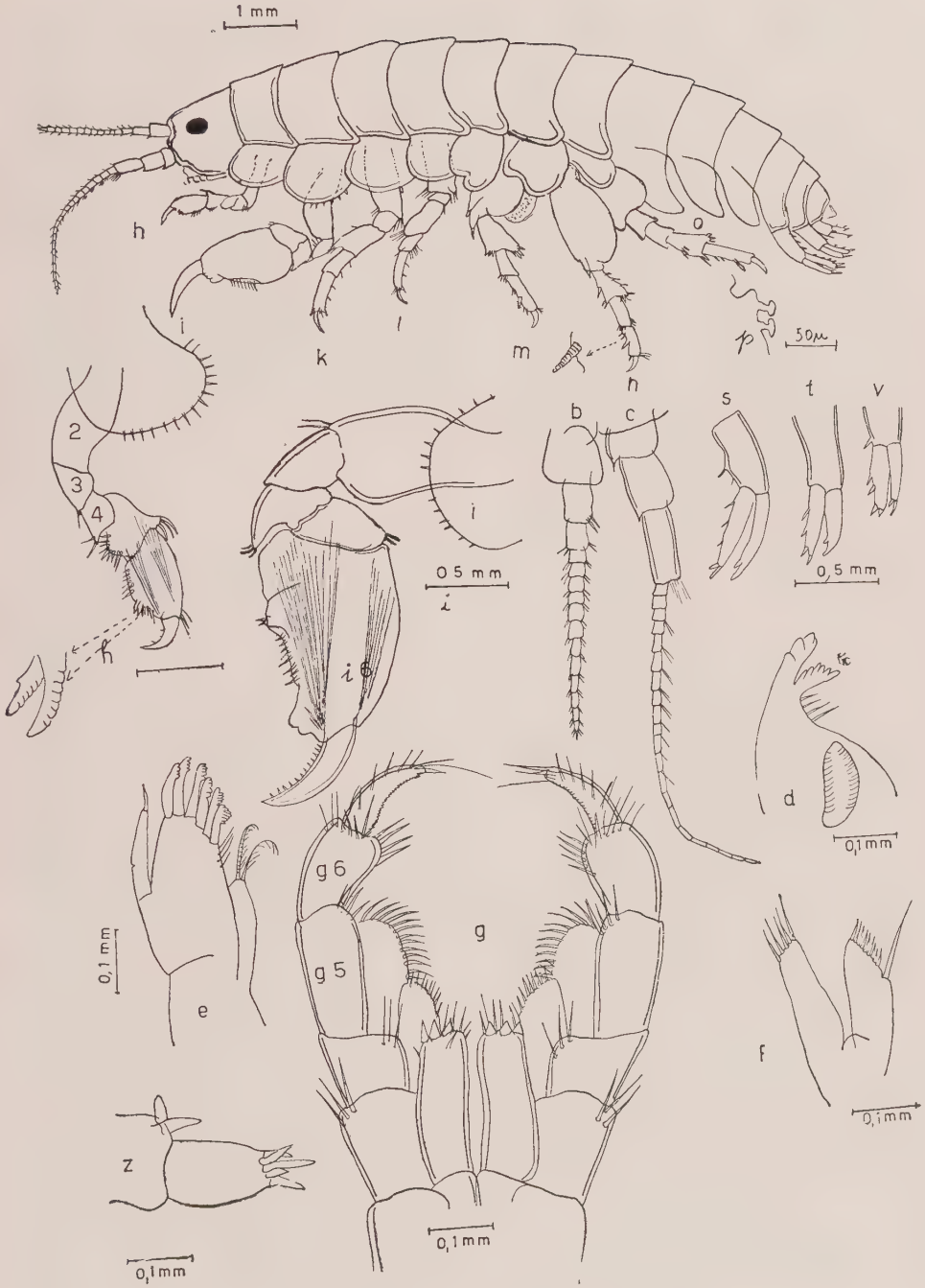
MATERIAL

Esta espécie foi descrita em 1852 por Dana, encontrada no Rio de Janeiro. Nós redescrevemos a especie em parte pela descrição de Stebbing 1906, p. 569 em parte pelo nosso macho 2320 montado nas laminas 2320-2329.

Genero HYALELLA S. I. Smith 1874

Hyalella Smith 1874, vol. 2, p. 645
Lockingtonia? Harford 1877, vol. 7, p. 53

ESTAMPA 17


1 mm
h
o
i
k
l
m
n
p
50µ
2
3
4
h
i
0 5 mm
i
b
c
s
t
v
0,5 mm
d
0,1mm
g 6
g
g 5
e
0,1 mm
f
0,1mm
z
0,1mm
0,1mm

Hyalella Stebbing 1888, vol. 29, p. 172, 433
Hyalella D. Valle 1893, vol. 20, p. 512
Hyalella Stebbing 1906, vol. 21, p. 574
Hyalella Ortmann 1911, vol. 3, p. 650.
Hyalella Monod 1926, p. 58, fig. 56
Hyalella Barnard 1932, vol. 5, p. 219
Hyalella Shoemaker 1942, vol. 32, p. 81-83, fig. 1
Hyalella Schellenberg 1943, vol. 2, p. 219

CHAVE PARA ESPECIES VERIFICADAS NO BRASIL

1. — com dentes dorsais somente no pleon, *H. azteca* (Sauss.)
Esta especie foi verificada superficialmente no Brasil, no lago Tramandai, Rio Grande do Sul e determinada como *Hyalella azteca* var. *inermis* Smith. Recentes estudos após dissecção mostraram a Shoemaker (U. S. Museum) que o especimes brasileiros não eram desta especie.

1a. — sem dentes dorsais, 1.ª 2.ª 3.ª e 4.ª placas laterais não apresentam processo espinhoso 2

2. — com branquias acessorias 4
sem branquias acessorias 3

3. — Ultimo par de uropodos alcança a extremidade do par anterior (2.º) e é muito longo; telson com 2 longas cerdas na margem interna; 1.ª antena do mesmo comprimento que a 2.ª *H. longistila*
(Faxon, 1876). Encontrada a 3 milhas ao sul de Campos (Água dôce)

4. — O dedo do 2.º gnatópodo do macho somente toca pela ponta na palma não aderindo a esta (como na especie *H. Jelskii* da Cordilheira Pumamarca);
I pereiopodo não mais curto que o II 5

5. — 2.ª antena maior que a metade do comprimento do corpo. Telson inteiro quadrado ou oval; 3.º segmento do pleon com os cantos postero-laterais agudos: — *H. meinerti* Stebb. 1899, descrita no Brasil, e *H. warmingi* Stebb. achada em Lagôa Santa, a 1200 m. de altitude.

5a. — 2.ª antena menor que metade do comprimento do corpo do animal; com o 5.º articulo do pedunculo maior que o 4.º, flagelo maior que o pedunculo, com cerca de 14 articulos; não leva orgãos sensoriais 6

6. — 2 espinhos curvos proximos da extremidade distal do ramo interno do 1.º uropodo do macho:

H. curvispina Shoemaker 1942

Em aguas do Uruguai e do Lago Tramandaí no Rio Grande do Sul, no Rio Imbé entre as raizes de *Pontederia* e *Rhyncospora*.

6a. — 1 espinho curvo proximo da extremidade distal do ramo interno do I uropodo do macho:

Hyalella curvispina var. *cangallensis*

Quanto a esta especie do genero *Hyalella* nós consultamos ao Dr. CLARENCE SHOEMAKER, do Museu Nacional dos Estados Unidos, e a ele remetemos laminas da *Hyalella* de sua descrição: *Hyalella curvispina* Shoemaker; e deixamos aqui os nossos agradecimentos. Reviu nossas laminas, e achou-a que era da forma: *Hyalella curvispina* forma *cangallensis* Schellenberg. Ha contudo uma divergencia quanto a estas especies: Schellenberg identificou de Punta-Arenas, Chile, *Hyalella knickerbockeri,* mas agora Schellenberg a considera uma nova especie que chamou *Hyalella simplex,* e ele chamou á forma peruana de *H. simplex* forma *cangallensis*. SCHELLENBERG estabeleceu que *simplex* tem duas espinhas curvas proximas da extremidade distal do ramo interno do primeiro uropodo do macho, e que na forma *cangallensis* somente existe uma espinha. Não ha dentes dorsais nem em *simplex* nem em *cangallensis*. Ha razões para se acreditar que *H. simplex* seja sinonima de *H. curvispina* e como *curvispina* (1942) tem prioridade sobre *simplex* (1943) o nome correto atual é *Hyalella curvispina* forma *cangallensis*.

HYALELLA CURVISPINA Shoemaker forma *CANGALLENSIS* Schell.
(Estampas 18 e 19)

Hyalella simplex f. *cangallensis* Schellenberg, 1943, vol. 2, 218

MACHO — Cabeça ligeiramente mais longa que o 1.º segmento do pereion e tambem que o 1.º segmento do pleon. As primeiras placas laterais são de mesma altura, a quarta é a maior, as 5.ª 6.ª e a 7.ª são de cerca de metade da altura das primeiras 4, a 7.ª é a mais curta. Pleon dilatado, com o 3.º segmento talvez o mais longo, as partes postero-laterais dos segmentos do pleon são agudas e com os angulos fracamente arredondados, suas margens ventrais não são serradas. Olhos ovais, na vizinhança da 1.ª antena. Primeira antena menor que a segunda, 3 articulos do pedunculo sucessivamente decrecendo em comprimento e em largura. Flagelo mais longo que o pedunculo (no especime macho figurado de seu lado direito o flagelo tem 11 articulos); os primeiros 7 articulos são dilatados apicalmente, os 4 articulos distais são cilindricos. A 2.ª antena tem os dois ultimos articulos pedunculares de mesmo comprimento, o ultimo mais delgado que o penultimo: o flagelo consiste de 13 articulos, o ultimo não é alargado distalmente. Labio superior com sua margem distal delicadamente guarnecida de pelos, e as margens fazendo um angulo de cerca de 130º-140º os pelos se inclinam para o centro da margem. Mandibulas: a extremidade da mandibula (esquerda?) termina num forte dente duplo precedido por 3 dentes menores, as placas secundarias assemelham-se com a lamina incisiva, excepto no que diz respeito aos dentes pois esta tem um dente maior e 4 menores. A serie de espinhos é constituída de 4 cerdas plumosas sinuosas, e duas cerdas retas, o tuberculo molar tem a face oval com numerosos denticulos, cerca de 30 fileiras destes denticulos, sendo que a 6.ª fileira é em forma de Y; nota-se, aparentemente, 4 cerdas biramosas no canto, não ha palpo. Labio inferior: lobos prin-

cipais fracamente descentes e qualquer coisa de paralelos á primeira vista, o processo mandibular arredondado largamente não muito projetante (na femea Est. 19 fig. lab. inf.) Primeira maxila: lamina interna com 2 cerdas plumosas, a lamina externa é larga, e a extremidade distal tem uma fileira de 7 espinhos serrados e pectinados, os 3 mais externos suportam 3 denticulos, os outros 3 mais que 5, e o denticulo interno com 7 denticulos pectinados; palpo pequeno e terminando em uma ponta aguda. Segunda maxila: lamina externa mais comprida e pouco mais larga que a interna, distalmente franjada com uma massa de delicados espinhos curvados, os 2 externos mais curtos, os outros mais longos, a lamina interna tambem distalmente franjada com espinhas e com uma cerda plumosa na sua margem interna superior. Maxilipodos: lamina interna com 3 cerdas plumosas espalhadas na sua superficie, dois dentes fortes na margem distal, e um dente na margem ou quasi no angulo interno-distal, entre estes ha numerosas cerdas, lisas e plumosas, uma fileira de cilios está colocada obliquamente e vai até ao angulo externo da lamina. Lamina externa não mais curta que a interna, alcança até ao 2.º articulo do palpo, com espinhas distais e tambem espinhas na parte superior de sua margem interna; 4 espinhas e mais outras numerosas incontaveis e de tamanho variado estão na superficie lateral. O 1.º articulo do palpo tem sua margem externa muito maior que a interna, é mais curto que o 2.º articulo, este distalmente lobado na sua margem interna com 2 fileiras de espinhos; o 3.º articulo do palpo tem um lobo distal arredondado no lado interno, e o angulo externo mais proeminente com um longo espinho e varias fileiras de pequenos espinhos; o 4.º articulo é agudo e leva uma unha, sua superficie tem 3 cerdas. I gnatopodo: menor que o segundo e subquelado, o 5.º articulo tem escamas colocadas regularmente na margem inferior e com um lobo levando espinhas curtas e longas, algumas delas obliquamente colocadas; 6.º articulo sub-triangular 3/2 vezes mais longo que largo, palma obliqua e convexa, com 9 espinhas delicadas em uma carreira, e ha um lobo com 2 espinhas divergentes; a margem anterior leva uma espinha proxima do 1/3 distal e é armada de escamas pectinadas proximas da extremidade distal, distalmente tambem tem uma fileira de varias cerdas longas e delgadas. A margem interna da junta é lisa, mas medianamente tem uma cerda delicada e distalmente uma porção de minutas escamas pectinadas. O 7.º articulo se adapta bem á palma, sua superficie é lisa, e leva 2 cerdas na margem externa, tem uma fileira de espinulas na margem interna. II gnatopodo maior e mais robusto que o I, 2.º articulo alargando distalmente, 3.º articulo aproximadamente quadrado, com o lobo antero-distal fracamente ornamentado; 4.º articulo grosseiramente retangular, um pouco mais longo que o 3.º com o angulo postero-distal arredondado; 5.º articulo cupuliforme como ocorre no genero *Hyalella;* 6.º articulo com a convexidade da margem frontal aproximadamente igual a da margem posterior mas esta é mais curta e tem um tuberculo rugoso com 2 espinhas mais largas e uma mais curta, ha uma especie de bolso em que se encaixa a ponta do dedo; a palma começa proximo a articulação do dedo é

ESTAMPA 18

I
K
L
M
N
O
b
0,1 m.m.
♂
1 m m.
Z
1mm
z
v
t
s
i ♂
h ♂
c
0,1 mm
c
1mm.
bran. ♀
ova ♀
p ♂
g
h
0,1mm
l
0,1mm
e
d
0,1 mm
d
0,1 mm

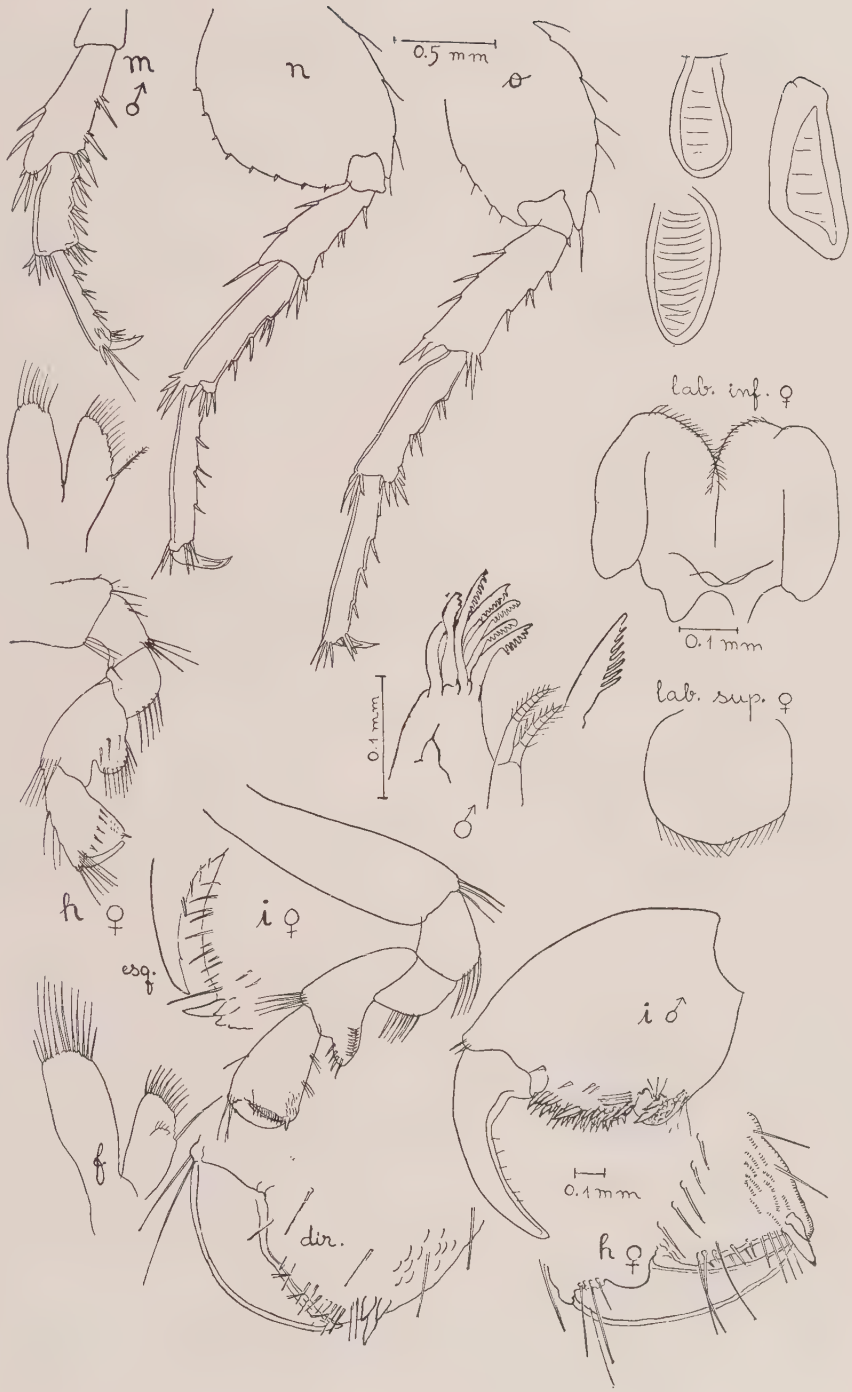
no começo reta e obliqua depois torna-se convexa, tem varias fileiras de espinhas, mas 8 são maiores que as restantes. As margens do dactilo são completamente lisas (no macho N.º 3016, nós vemos que não ha mais possibilidade de articulação do dedo, e na sua margem ha poucos cilios. (Est. 18) As fileiras de espinhas da palma tem 20 espinhas maiores que as do nosso tipo N.º 3004, (cujas laminas foram vistas pelo Dr. CLARENCE SHOEMAKER, o autor desta especie), e o seu largo tuberculo tem 4 espinhas grandes em vez de: 1 maior e 1 menor — do tipo 3004. I pereiopodo um pouco mais curto que o II, mas ambos são semelhantes na forma e na armadura de espinhas. Pereopodos 3 — 4 — 5 com os 2.º articulos muito expandidos e suas margens inferiores produzem um lobo arredondado. O 3.º pereiopodo é mais curto que os 2 seguintes e cerca de 3/4 do comprimento do 4.º pereiopodo. O 4.º articulo maior que o 5.º, mais alargado distalmente. O angulo postero distal tem duas espinhas grandes e duas pequenas; A margem frontal tem 2 grupos de 2 espinhas pequenas e 1 maior; o 5.º articulo tem 2 grupos de espinhas distais 5 dispostas anteriormente e 5 posteriormente, a margem anterior tem 2 grupos de 3 espinhas. 6.º articulo de margem posterior lisa, angulo distal com uma espinha e 1 ou 2 cerdas longas; na margem frontal 4 espinhas em V. Dactilo com cilio. 4.º e 5.º pereopodos muito semelhantes; o 4.º é 9/10 menor que o 5.º, com o seu 4.º articulo menor que o correspondente no outro pereiopodo; o 2.º articulo tem o mesmo comprimento tanto no 4.º como no 5.º pereiopodos, mas é oval arredondado no 4.º, não tão oblongo e oval como no 5.º pereiopodo; as armaduras de espinhos estão representadas na fig. m, n, o da EST. 19.

Pleopodos biramados de cerdas muito finamente plumosas.

Uropodos: o 1.º maior que o 2.º, o 3.º é o menor.

O 1.º uropodo tem 2 ramos sub-iguais, de ramos e pedunculos espinhados, o ramo anterior tem a margem anterior reta e liza, e apresenta na sua margem distal espinhas: 2 curtas, 1 media, 1 longa; o apice tem uma espinha curva e 2 retas, pequenas. O ramo posterior tem 3 espinhas marginais, 1 superficial, e 2 curtas e 2 longas apicais. 2.º uropodo semelhante ao 1.º, mas os 2 ramos são de mesmo comprimento, as espinhas são em lança, e são mais largas, a margem anterior do ramo anterior é liza, a margem posterior tem 3 espinhas em lança, e 2 longas e 1 pequena espinha apical. No apice do ramo posterior ha 4 espinhas pequenas e 2 longas. 3.º uropodo é o mais curto só tem um unico ramo, o 1.º articulo tem 2 espinhas latero-distais e um angulo agudo curvado para dentro no angulo distal interno; o ultimo articulo é triangular agudo, com um espinha pequena apical e 3 cerdas. Telson inteiro, alcança até a extremidade do fim do pedunculo do 3.º uropodo, e suporta as espinhas no apice simetricamente: uma curta, uma longa, e lateralmente cilios curtos. As vesiculas branquiais do II segmento do pereion são: uma ciliada, triangulada, maior que a 2.ª placa lateral, e a outra uma vesicula lisa. No III segmento ha uma vesicula ciliada mais longa que a 3.ª placa lateral e outra lisa, de cerca de 2/3 desta. No segmento IV, 2 vesiculas branquiais, uma

ESTAMPA 19



ciliada a outra liza, como no segmento III, mas ha uma cilindrica na região coxal. No V segmento: uma oval e lisa e uma ciliada, oblonga. VII segmento sem vesiculas branquiais.

FEMEA — I gnatopodo de 6.º articulo com a palma transversa, definida por um lobo sustentando 2 espinhas, margem posterior com escamas pectinadas, margem frontal com 3 cerdas, o dedo é liso adaptando-se perfeitamente á palma. II gnatopodo muito semelhante ao 1.º mas mais longo e mais largo; 6.º articulo igual em comprimento com o 5.º; o lobo do 5.º projeta mais do que no 1.º; palma transversa mas convexa, com escamas pectinadas na sua superficie distal interna, e dois grupos de 3 cerdas.

MEDIDAS — O macho, comprimento: 8,7 mm sem contar as antenas.

Distribuição geografica — Pampa de Cangallo (Perú) Schellenberg. Estado do Rio de Janeiro, Sarapuí.

Material examinado. —

Catalogo n. 668 — Estado do Rio de Janeiro.

Corregosinho que vai ao Rio Sarapuí. Nos viveiros do pitú *Macrobrachium acanthurus*, na Fazenda do Sr. K. Zsigmond, fornecedor de ovos para o Instituto Oswaldo Cruz. Capturado em 28 de Junho de 1944. Um frasco com 8 exemplares.

Catalogo n.º 3004 — Um macho tirado do frasco 668 e montado em 1 lamina.

Cat. n.º 3016 — um macho tirado do frasco 668, dissecado e montado em 5 laminas n.º 3016-3020.

Cat. n.º 3021. — Um exemplar femea, tirada do frasco 668, dissecado e montada em 5 laminas, n.º 3021-3025.

NOTA — O pitú *Macrobrachium acanthurus* se alimenta com este *Amphipoda*.

ALLORCHESTES Dana

Allorchestes Dana 1852, vol. 2, p. 205.
Allorchestes Stebbing 1888, vol. 29, p. 1686
Aspidophoreia Haswell 1880, vol. 5, p. 101
Allorchestes Barnard 1932, vol. 5, p. 220
Allorchestes Barnard 1940, vol. 32, p. 535

Chave para especies encontradas no Brasil:

1. — Gnatopodo I do macho, dedo mais longo que a palma: (especie da Nova Zelandia) .....
1a. — Gnatopodo I do macho, dedo mais curto que a palma 2
2. — telson não dividido até a base (varias especies não verificadas no Brasil)
2a. — telson dividido até a base 3

3. — Telson de lobos quadrados, gnatopodo I da femea com os 5.º e 6.º articulos de mesmo tamanho ..... (não no Brasil)
3a. — Telson de lobos triangulares, gnatopodo I da femea com o 6.º articulo maior que o 5.º ..... *Allorchestes chelonitis* n. sp.

ALLORCHESTES CHELONITIS (*)
nova especie
(Est. 20 e 21)

DESCRIÇÃO

4.ª placa lateral a mais alta, 5.ª placa escavada e a mais longa, 6.ª e 7.ª placas pequenas. Pleon de cantos arredondados, 1.ª antena menor que a 2.ª o seu pedunculo é do tamanho da metade do pedunculo da 2.ª antena; e com o 1.º articulo maior que 2.º, 2.º maior que o 3.º, flagelo de 14 articulos (alcançando pouco menos da metade do tamanho da 2.ª antena). II antena com o 1.º articulo menor que 2.º, o 2.º menor que o 3.º no pedunculo; flagelo de 29 articulos. Labio inteiro, arredondado. Mandibulas (fig. d Est. 20) sem palpo, com parte incisiva em laminas alabardas uma delas com 6 dentes e a outra lamina com 8 dentes; ha 7 espinhos recurvos, sendo 1 liso e outros penados. Labio inferior sem lobos internos presentes, de bordos não chanfrados. I maxila armada com 2 espinhos em tridente, um em feitio de alabardas (1 e 2 fig. e est. 20); depois 4 espinhos em pente. Palpo curto menor que a base da armadura de espinhos.

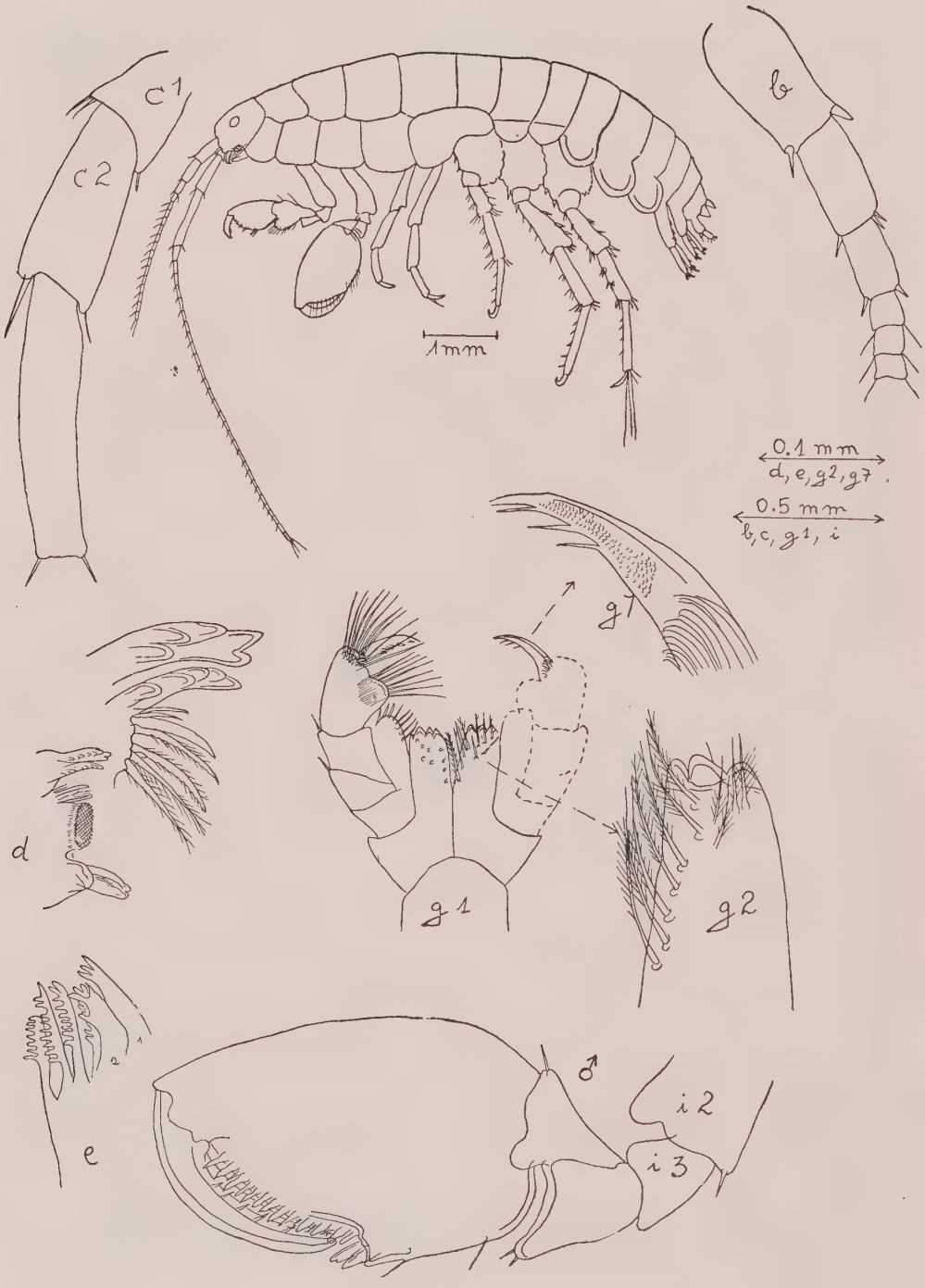
Maxilipodo, lamina da base denteada a 3 dentes de alabarda e com 10 cerdas pectinadas. Lamina interna do isquio ovoide e ornada de cerdas lisas. Palpo com 3.º articulo alargado e com dactilo recurvo a 3 espiculos interiormente. (g. Est. 20) I gnatopodo do macho subquelado menor do que o II; propodo em sub-semicircunferencia a 2 espinhos na margem posterior; mero retangular, isquio menor que o mero. Na fêmea o I gnatopodo (h, Est. 21) é muito semelhante ao do macho, o isquio é mais recurvo na fêmea. II gnatopodo do macho (i, Est. 21) subquelado, propodo ovoide, grande; margem dactilo-articular obliqua sub-reta com 17 espinhos em ponta de gladio, retos, as vezes em dardo de uma pequena farpa; ha 13 espinhos maiores e 4 menores; a margem posterior lisa, tem 2 cerdinhas pequena e fininhas e vai a um tuberculo onde ha 2 espinhos retos cada um com uma pequena farpa. O restante da mão é lisa. Carpo pequeno, triangular; mero sub-losangular, uma das suas margens serve de encosto ao propodo e tem na ponta 2 cerdas curtas. Isquio pequeno. II gnatopodo na fêmea (fêmea 3010)—de feitio muito caracteristico (i, Est. 21) o propodo tem 2 lobos: um dos lobos, e o dactilo-articular tem 5 franjas de cerdas, e 1 espinho reto, liso e o outro lobo é finamente cerdado, carpo tambem com um lobo ovoide cerdado mero trapezoidal; isquio pequeno.

I e II par de pereiopodos mais fracos que os outros; III par de pereiopodos com o dactilo uncinado em árpeo; propodo em bastonete

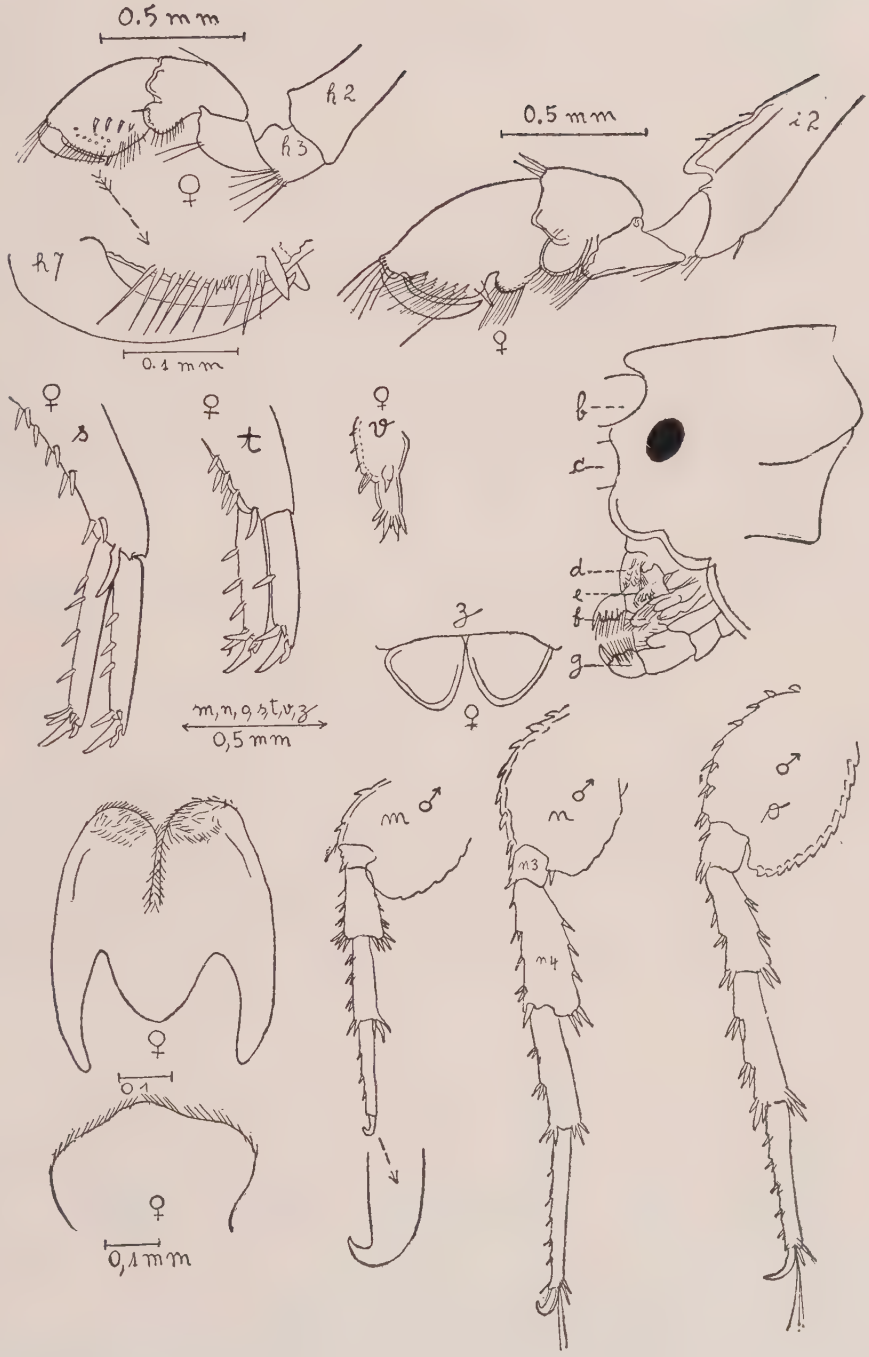
* Carapaça parecendo casco de tartaruga, idem pedra preciosa.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

ESTAMPA 20



Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



reto, firme, com 3 espinhos lisos retos marginais; carpo mais largo que o propodo, forte armado de: — inferior e anteriormente 3 espinhos em bulhão, e inferior e posteriormente idem 3 espinhos em bulhão; marginalmente $\frac{2\text{-}\ 2\text{-}\ 2}{0\ \ 0\ \ 0}$ espinhos retos; mero mais largo na articulação mero carpal a 4 — 4 espinhos-bulhões; marginalmente $\frac{2\text{-}2\text{-}1}{2\text{-}1\text{-}2}$ espinhos; IV e V pereiopodos análogos mas com armadura pouco diferente, n,o, Est. 21) o V pereiopodo não termina com o dactilo uncinado. I uropodo o maior, pedunculo de 4 espinhos marginais e 4 no topo. II uropodo menor que o I, com o pedunculo de 3 espinhos retos e um bulhão recurvo, e 2 ramos a 3 espinhos marginais e 1 espinho de ponta recurva falciforme maior e 3 espinhos em bulhão menores. III uropodo: pedunculo pequeno, largo, 3 espinhos marginais, 1 espinha reta no canto; ramo maior com 6 espinhas: 3 maiores e 3 menores; ramo menor atrofiado muito curto quasi sobre o maior (s, t, v, Est. 21). Telson fendido, liso, em forma de 2 triangulos equiláteros. (z, Est. 21)

MEDIDAS — Macho (n.º 2986) com 8 mm. da cabeça a cauda, e antena de 6 mm; total = 14mm.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRAFICA

Baia de Sepetiba — Estado do Rio de Janeiro.

MATERIAL — No frasco 2986 da Estação de Hidrobiologia 33 especimes do Museu Nacional capturado por Alceu Lemos de Castro, em 12 de Janeiro de 1951 em Mangaratiba, na Parada Ribeira, debaixo das pedras, na maré, vazante. *Holotipos:* destes 33 especimes tiramos o macho dissecamos e montamos em 3 laminas: 2986i, 2986ii e 3005.

Este foi estudado. Um exemplar fêmea foi montado nas laminas, 3007 — 3010.

FAMILIA *AMPITHOIDAE*

Cabeça com lobos laterais não muito proeminentes. Placas laterais regulares, 4.ª com margem interna não excavada, 5.ª com largo lobo para a frente, recobrindo a 4.ª, tão funda como a 4.ª. I antena de 3.º articulo curto, flagelo acessorio, ausente ou pequeno. Labio inferior com lobos frontais, profundamente fendidos. Palpo mandibular grande, pequeno ou ausente. *Pars molaris* geralmente bem desenvolvida. Maxila I com cerdas simples na margem interna, 10 até 12 espinhos na extremidade do 2.º articulo do palpo. Maxila II.—placa interna somente franjada. Maxilipodo bem desenvolvido. Gnatopodo I não simples. Gnatopodo II não simples e maior que o I, usualmente

mais largo na femea que no macho, e são bem mais diferenciados no macho. Pereiopodo I e II glandulares, o III — revertido, e o IV o mais longo. Uropodo I e I biramados sendo o III biramoso, com curtos ramos, ramo externo apresenta-se uncinado. Telson simples, nunca fendido.

DIAGNOSE PARA OS GENEROS ENCONTRADOS NO BRASIL

Genero *Ampithoe:* Mandibula com palpo, I antena sem flagelo acessorio, pereiopodos 3, 4 e 5 com o 6.º articulo não fortemente alargados no apice. No 3.º pereiopodo o 2.º articulo é mais largo que longo. Uropodo com o 3.º ramo externo com 2 espinhas revertidas.

Genero *Grubia:* igual a *Ampithoe* com excepção de: no 3.º pereiopodo a 2.º articulo é mais longo que largo. Uropodo 3.º com ramo externo com 2 ganchos. (E nas especies *G. crassicornis* do Mediteraneo, e *G. setosa* do Sul do Pacifico: I antena com 1 flagelo acessorio uniarticulado.)

Genero AMPITHOE Leach

Ampithoe Leach 1813, 1841; vol. 7, p. 403, 432.
Amphithoe Latreille 1816, vol. 1, p. 470.
Cymadusa Savigny 1816, vol. 1, 109.
Amphitose Desmarest 1825, p. 268.
Ampithoe Latreille 1829, vol. 4, p. 121.
Amphitoe Guerin 1836, vol . p. 28.
Ampitoe M. Edwards 1840, vol. 3, p. 28.
Amphitoe M. Edwards 1840, vol. 3, p. 28.
Amphitoe Goodsir 1845, p. 75.
Amphithoe Dana 1849, vol. 8, p. 137.
Amphithoe Bates 1862, p. 233.
Amphithoe Stebbing 1888, vol. 28, p. 1113.
Amphithoe Della Valle 1893, vol. 20, p. 454.
Amphithoe Sars 1894, vol. 1, 578.
Amphithoe Chevreux 1900, vol. 16, p. 99.
Amphithoe Stebbing 1906, vol. 21, p. 631.
Ampithoe Barnard 1916, p. 256.
Ampithoe Barnard 1932, vol. 5, p. 239.
Ampithoe Pirlot 1938, vol. 33, p. 346.
Ampithoe Barnard 1940, p. 480, p. 538.

DIAGNOSE. — Mandibula sem palpo, I antena sem flagelo acessorio. Os propodos (6.º articulos) dos pereiopodos III, IV, V são de forma comum, cilindricos, não alargados no ápice.

CHAVE PARA AS ESPECIES BRASILEIRAS:

1. — Gnatopodo I do macho menor que o gnatopodo II; gnatopodo II do macho subquelado; pereopodos 1.º e 2.º de 2.º articulo não expandido largamente: 2
2. — I gnatopodo de 6.º articulo mais largo que o 5.º .... *Ampithoe brasiliensis* Dana
2a. — I gnatopodo de 6.º articulo não muito mais largo que o 5.º ..... *A. filicornis* Dana.

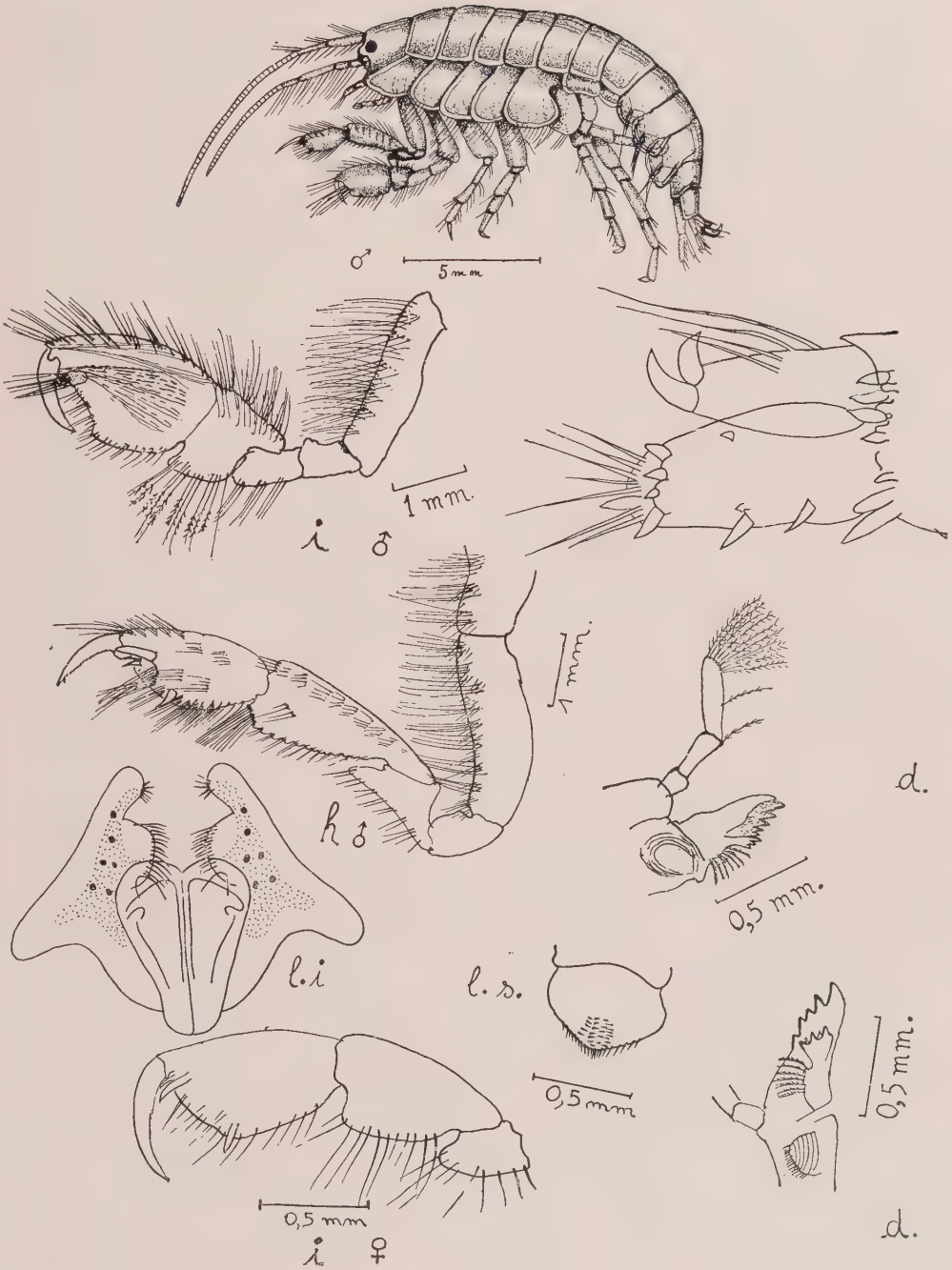
Ampithoe brasiliensis (Dana) 1853
(Est. 22 e 23)

Amphitoe brasiliensis Dana 1853 XIII, p. 943 pl. 64, figs. a — n.
Amphitoe brasiliensis Bate 1862, p. 248, t. 43; f. 3.
Amphitoe rubricata (p. parte) Valle, Della 1893 (pro parte) XX, p. 456.
Amphitoe brasiliensis Sttebing 1906 XXI, p. 456, 457.
Ampitoe brasiliensis Barnard 1932, vol. 5, p. 240
Ampithoë brasiliensis Barnard, 1932, vol. 5, p. 6.

DESCRIÇÃO: —

Corpo comprimido. Placas laterais largas, I antena muito maior que a metade do corpo. Pedunculo de tres articulos, o 1.º articulo com 2 espinhas distais, o 3.º articulo é o menor, mede cerca de 1 terço do comprimento dos outros articulos; flagelo simples, multiarticulado. II antena, um pouco menos comprida que a I, é hirsuta, apresenta pedunculo de 5 articulos: o 1.º articulo tem uma ponta de onde sai a respectiva glandula, o 2.º e o 3.º pequenos, o 4.º o mais longo e mais largo. Todos eles franjados de pêlos; ha uma franja obliqua no 2.º articulo. Labio superior: arredondado simetrico (fig. 1.s.) Maxilas I e II. Com os caracteres do genero *Ampithoe* (figs. e, f.) Mandibula: Na parte incisiva 1 dente grande isolado seguido de uma lamina de 5 dentes, um menor que o outro até o 5.º que é o menor; Corôa de 5 dentes, sendo de 3 maiores e no intervalo 2 menores, tendo internamente e inferiormente 7 cerdas serrilhadas cada uma com 8 dentes de serrote na sua margem superior; na parte molar: Ovoide; Palpo de 3 articulos, o 3.º articulo com 10 cerdas bipectinadas. A figura mostra a mandibula quando a preparação dobra e faz as cerdas bipectinadas ficarem para dentro (este é o aspecto figurado por Dana em 1853). Maxilipodo. Coxa esquerda unida á direita formando um sé peça. Basipodo, com lamina interna oval, de margem interna com cerdas pectinadas; isquiopodito: Lamina interna com 4 espinhas recurvas na margem distal e numerosas espinhas (isto é, 12 espinhas no nosso tipo 1924). Espinhas menores recurvas na margem interna. Palpo de 5 articulos. Labio inferior: profundamente escavado, com um lobo distal ovoide, não ciliado, uma excavação, depois um labo ciliado, aproximadamente do mesmo tamanho do lobo distal. Processo mandibular

ESTAMPA 22

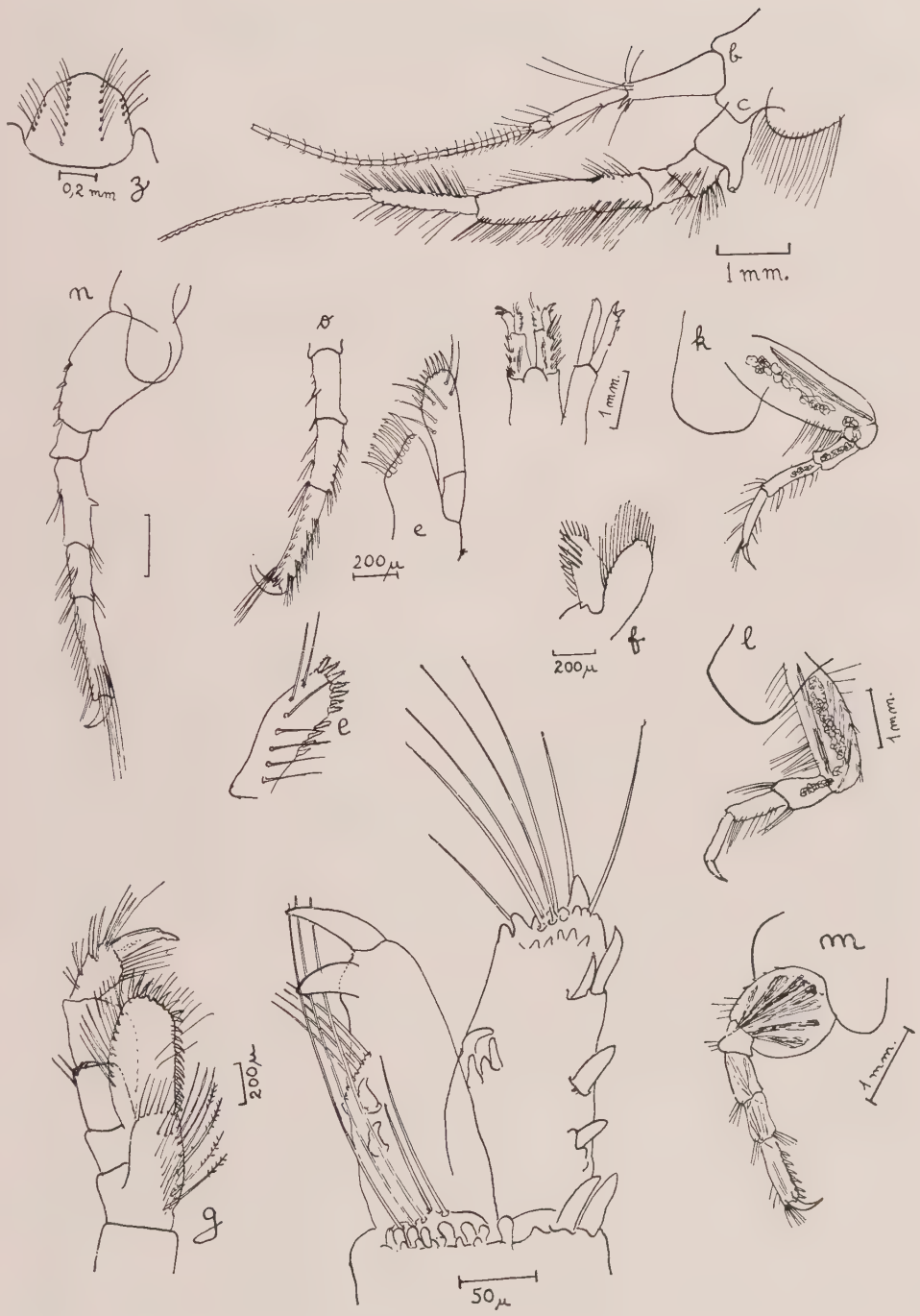


de margens ciliadas. I gnatópodo: dactilo grande medindo em media metade do comprimento do propodito. A margem dactilar é concava, não lisa, serrilhada; as serrilhadas são a maneira de ornato grego, quando vistas com grande aumento. A lamina n.º 1917 apresenta 26 dentes em forma de serrilha, depois uma parte arredondada articular, proximal posterior. Propodito tendo junto ao dactilo 1 espinho e ao pé deste 2 espinulas dispostas em aparencia a letra v; posteriormente vem 6 carreiras lineares de poucas cerdas lisas (isto é 3 a 8 cerdas) até ao meio da margem posterior onde ha um espinho, depois 8 grupamentos de cerdas lisas implantadas em carreiras lineares que vão diminuindo em numero a medida que se chega próximo ao carpo; as primeiras carreiras tem 6 cerdas, depois passam para 5, depois 3; na 9.ª e 10.ª carreira ha uma só cerda lisa.

No meio do propodito ha 2 carreiras lineares de 5 cerdas lisas, e na sua margem anterior 8 carreiras lineares de cerdas lisas. Carpo triangular alongado, da mesma grossura do propodo, margem posterior junto ao propodo, tem uma carreira em linha reta de 10 cerdas lisas, e formando um angulo de 120º. Vem em seguida a outra parte desta margem, que é denteada, e entre os dentes nascem tufos de cerdas lisas. Mero trapezoidal, possuindo um canto mais agudo inferior que fica atraz do carpo e abaixo da margem articular. Os outros articulos sem particularidades, com as margens franjadas.

II gnatópodo (fig. i) — dactilo, co mmargem concava serrilhada, serrilhas em feitio de ornato grego. Propodito oval, com uma margem dactilo-propodal em formato do tipo "queliforme". Junto a articulação do dactilo 2 espinulas, e uma placa ovoide ciliada. Atraz da placa ha um tufo de longas cerdas, depois amargem segue quasi reta só com cerdas lisas. Margem posterior concava; margem anterior franjada. Carpo curto, com lobo de margem posterior franjado de cerdas bipectinadas. Os outros articulos cilindricos, e sem particularidade. I e II pereiópodo glandulares, o I mais longo que o II. III pereiópodo, revertido, dactilo em forma de unha curva; propodito — margem inferior (que no genero *Ampithoe* cujo III pereiopodo é revertido, é margem superior) uma carreira reta de 9 até 12 cerdas lisas. Margem voltada para a concavidade do dactilo (que no genero *Ampithoe* é a margem antero superior) com a primeira a 1.ª espinha, mais proxima ao carpo rodeada de 2 espinulas; 2.ª espinha com 3 cerdas simples; 3.ª espinha, com 2 cerdas simples; 4.ª espinha, com 5 cerdas simples; 5.ª espinha, com cerdas simples encarreiradas em linha reta, e 1 espinula entre o dactilo. IV pereiopodo: dactilo recurvo, uncinado propodito liso franjado, um tufo de pêlos mais compridos que o dactilo. Carpo hirsuto. Mero com um espinho quasi no meio da margem posterior. Base com 4 espinhos na margem anterior. V pereiopodo: dactilo uncinado, propodito comprido retangular, margem articular dactilo-propodal com 3 espinhos; margem anterior com 8 espinhos. Margens posterior com 8 carreiras de cerdas lisas. Carpo só com cerdas lisas. Mero com 1 espinho inferior, e outro espinho anterior. Base com 2 espinhos na margem anterior.

ESTAMPA 23



Femea: — A femea é semelhante ao macho mas o II gnatópodo é de proporções diferentes. As peças bucais: labio superior I e II maxilas, maxilípodo e labio inferior são iguais às do macho, assim como os uropodos.

Ovos esfericos medindo em media 1/2 milimetro.

MEDIDAS: — Macho 25 mm.

MATERIAL: — Lamina 1917 até 1930, laminas 990 até 998.
Ilha do Catalão, Baia de Guanabara.
Lat. S. 22°50'40".

Long. W.Greenw. 43°13'12". Catal. n.° 2648 — 3 exemplares em alcool, Ilha d'Agua; 1948. Ilha Catalão, Abril de 1949 — n.° 698-699.

Distribuição geografica: Rio de Janeiro, Dana 1852; Rio de Janeiro, Lejeune de Oliveira, 1940; Ilha da Ascensão, na Clarence Bay 1925, (Barnard, 1932).

NOTA HISTORICA:

Stebbing na monografia sobre os Amphipoda, no 21.° volume do "Das Tierreich", refere ao *A. brasiliensis* somente pelas figuras e pelas descrições de Dana, e os coloca no genero *Ampithoe* dizendo "as peças bucais e os urópodos como foram figurados são francamente apropriados ao genero *Ampithoe*".

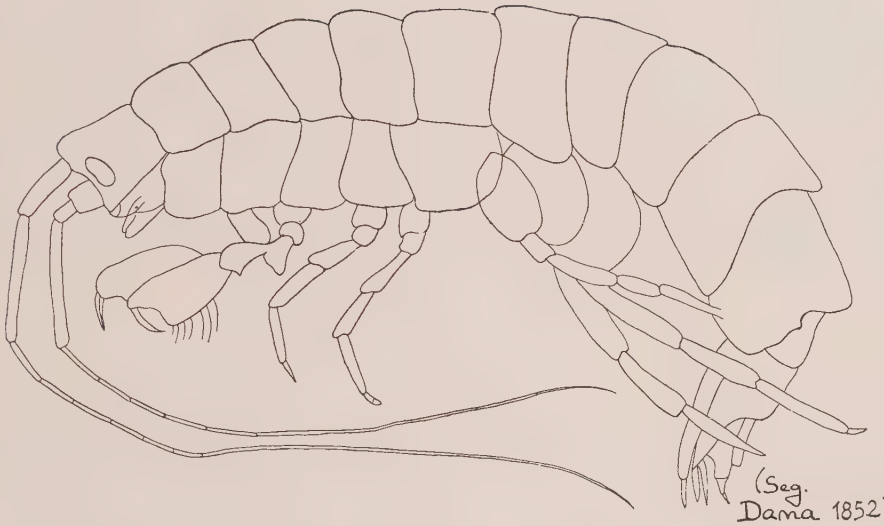
Nos exemplares de *Ampithoe* capturados na Baia de Guanabara não conseguiamos obter um que tivesse todos os caracteres de *A. brasiliensis,* descrito em 1852 por Dana. A figura 6e de sua plancha 64 é da mandibula, mas nunca obtivemos uma mandibula que correspondesse inteiramente aquela figura. Em fevereiro de 1949, quando estavamos montando material obtivemos por artificio e por acaso uma forma que correspondeu á figura n.° 6e de Dana; o que havia era então o seguinte: uma corôa de dentes com 3 pontas e uma carreira de cerdas (como está na nossa figura) dobraram para o exterior quando montavamos o material e deram um aspecto semelhante ao da nossa figura 12 que coincide com a figura 6e de Dana, e por isso então pudemos identifica-la ao *A. brasiliensis*.

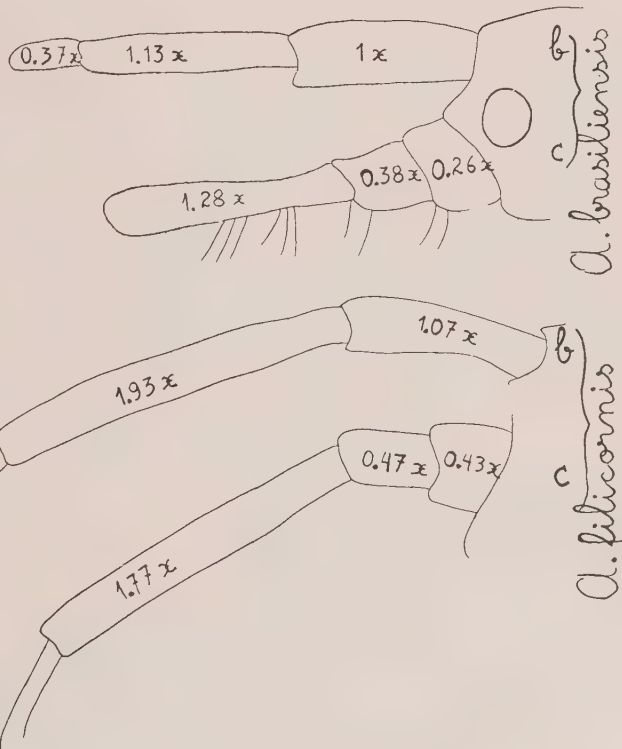
O maxipodo representado por Dana na figura 6h é exatamente em articulos e em proporções o mesmo encontrado por nós.

No 7.° articulo damos um desenho mais detalhado dos espinhos serrilhados, e a lamina interna 3.ª figuramos com mais detalhes nos seus espinhos distais e internos. A lamina interna com as suas cerdas pectinadas. Julgamos então que 96 anos após a descrição original de Dana reencontramos a especie *Ampithoe brasiliensis,* passamos a redescreve-la, baseados em material capturado na Ilha do Catalão (Baia do Rio de Janeiro). O fato de outros autores não terem reencontrado o *A. brasiliensis* leva-nos a suspeitar que sua distribuição seja limitada.

Em 1932 Barnard encontrou na Ilha da Ascensão, mas não os poude identificar definitivamente porque faltava ainda descrições mais completas de *Ampithoe brasiliensis*.

ESTAMPA 24


(Seg. Dana 1852)


0.37x
1.13x
1x
b
c
A. brasiliensis
1.28x
0.38x
0.26x
1.07x
b
1.93x
0.57x
0.47x
0.43x
c
A. filicornis
1.77x

Praticamos a diagnose do genero *Ampithoe* com o material *Ampithoe vaillant* recebido do Instituto Oceanografico de Monaco, especie do Mediterraneo ocidental.

A outra especie de *Ampithoe* achada no Rio de Janeiro por DANA em 1852 é a *A. filicornis* (estampa 24, segundo DANA 1852).

O que as distingue logo a primeira vista são as antenas mais longas e finas desta especie, conforme vê-se na sua figura original apezar da descrição de DANA ser insuficiente hoje, vê-se logo uma diferença entre as especies pela proporção dos 3 primeiros articulos da 1.ª e 2.ª antena: Se tomarmos x o comprimento do 1.º articulo da I antena de *A. brasiliensis* teremos o seguinte quadro:

ARTICULO	1.º	2.º	3.º
Ampithoe brasiliensis			
I antena	1X	1,13X	0,37X
II »	0,26X	0,38X	1,28X
Ampithoe filicornis			
I antena	1,07X	1,93X	0,58X
II »	0,43X	0,47X	1,77X

As indicações de *A. filicornis* deixadas por DANA foram:

"Antenas pouco mais curtas que o corpo, com poucas cerdas, flagelos longos, delgados. I antena pouco mais longa que a II, flagelo 3 vezes mais longo que o pedunculo, articulos oblongos, as cerdas no apice de cada articulo são pouco mais longas que as outras.

O flagelo da II antena tem 2 vezes o comprimento do pedunculo.

Gnatopodos sub-eguais; o II gnatopodo tem o propodo pouco mais largo, e de tamanho moderado, margens arqueadas e muito peludas, principalmente inferiormente; palma truncada obliquamente, durante escavada, angulo inferior sub-agudo; dactilo curto unguiforme.

Carpo oblongo, a parte inferior entre o mero e o propodo largo, densamente pilosa; mero com o apice inferior triangular saliente. Pereiopodos pilosos, cerdas longas, 6.º e 7.º par sub-iguais."

Genero GRUBIA Czerniavski

Grubia Czerniavski 1868, p. 103
Grubia Stebbing 1888, p. 377
Grubia Della Valle 1893, p. 464
Grubia Stebbing 1906, p. 644

CHAVE PARA AS ESPECIES

1 — Com antena de um flagelo acessorio, muito curto. ..... *G. setosa* (Hasw.)
do Sul do Oceano Pacifico.

1a — Com antena com flagelo acessorio do tamanho da metade do 1.º articulo do flagelo principal.
I maxila do flagelo principal do palpo 2 articulado; I antena do comprimento do corpo, II antena 2/3 do comprimento da I ..... *G. crassicornis* (A Costa) Mediterraneo, Mar Negro.

1b — I antena sem flagelo acessorio. Maxila de palpo 3-articulado. I antena menor que o comprimento, II antena maior que a I ..... *G. sardenta* n. sp.

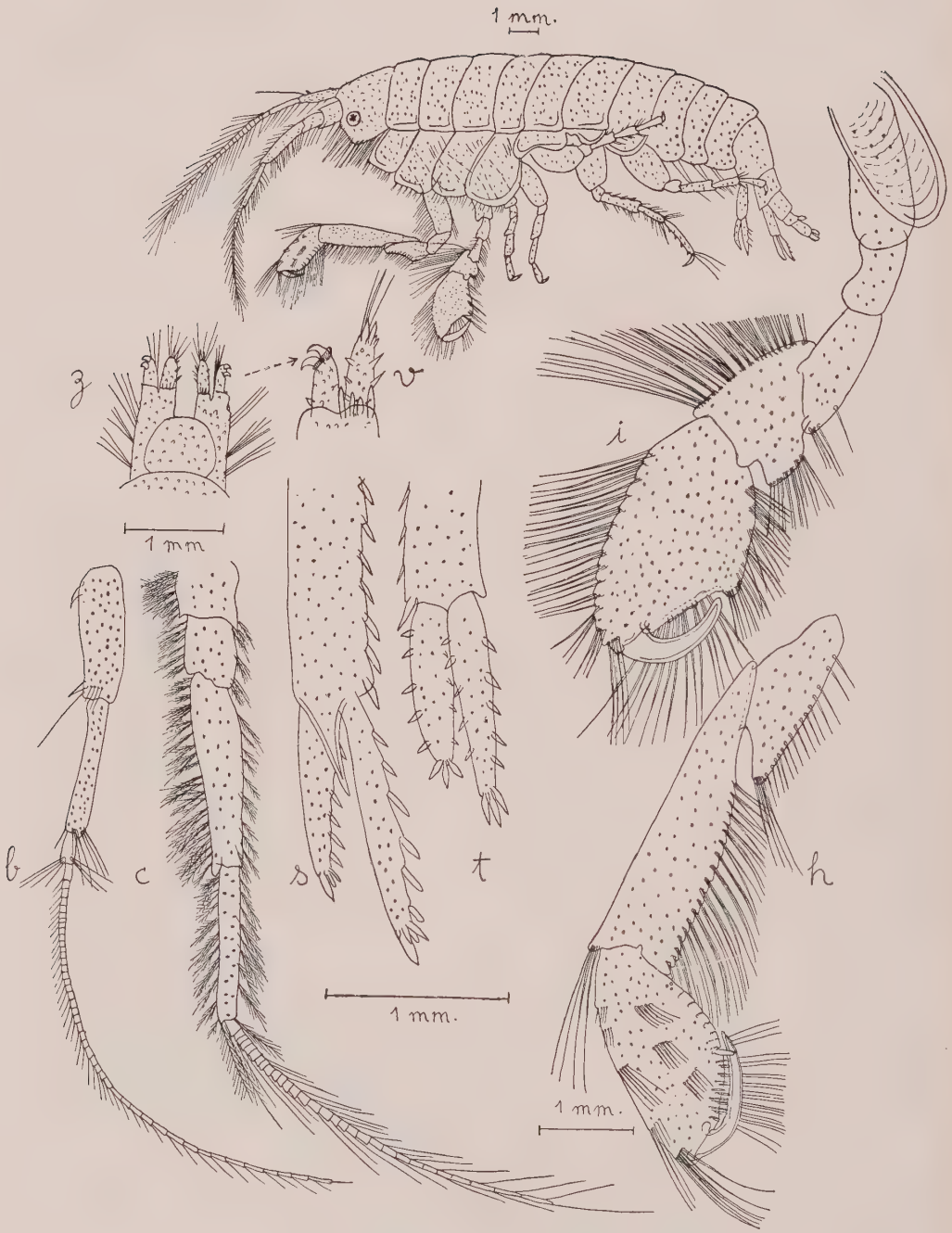
GRUBIA SARDENTA nova especie
(Estampas 25 e 26)

Corpo medianamente robusto, Cabeça de lobos laterais pouco proeminentes. 1.ª placa lateral pouco projetando para a frente, menor que a 2.ª, 3.ª e 4.ª mas maior que a 5.ª (Não é de mesma altura que a 5.ª como acontece em *crassicornis*); todas tem as quinas arredondadas.

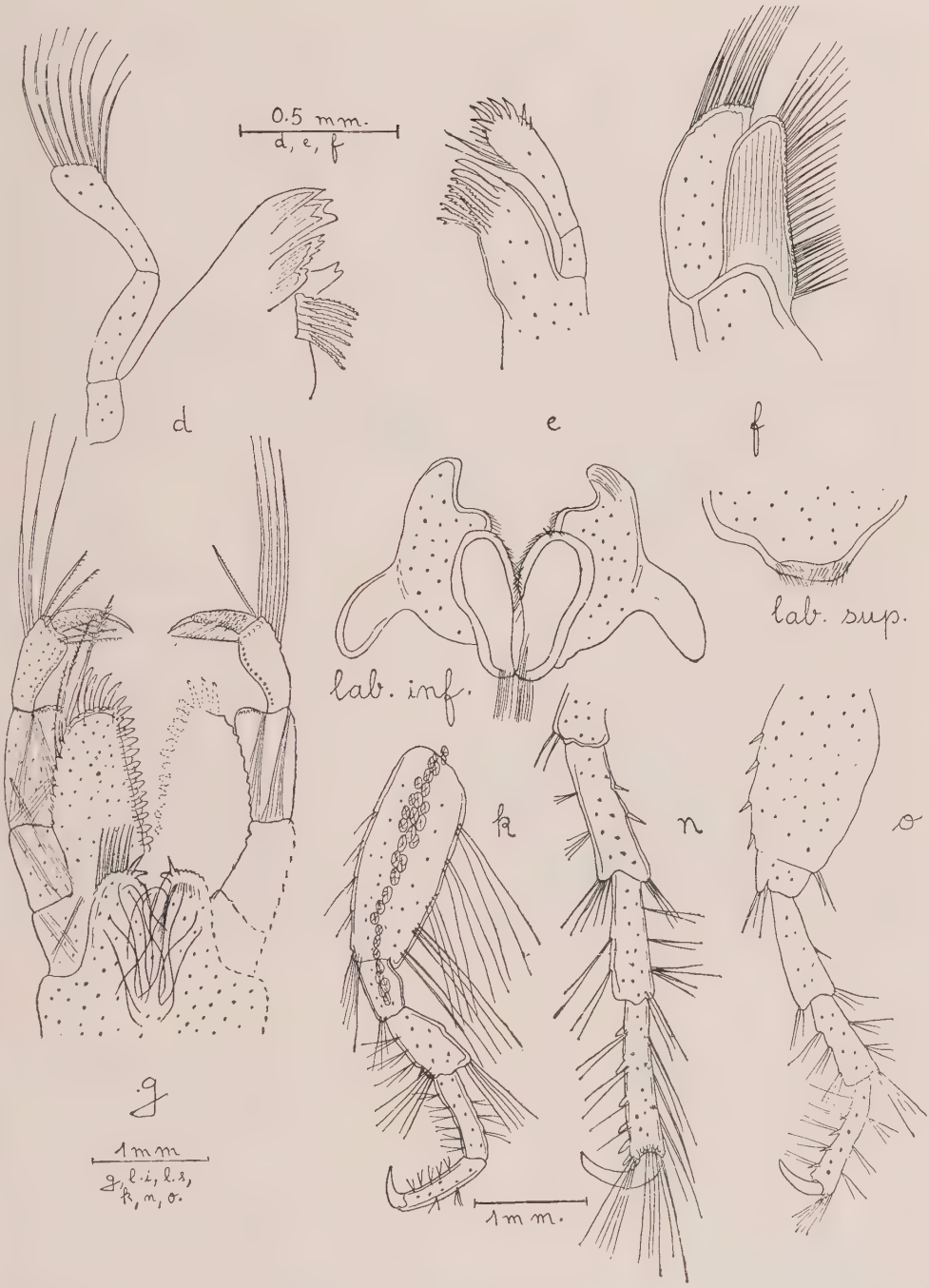
Segmentos do pleon de cantos arredondados. Olhos pequenos, redondos. I antena pouco menor que metade do comprimento do corpo, 1.º articulo menos comprido e mais grosso que o 2.º, tendo um gancho espinhoso proximalmente e 1 espinha distalmente, um pente de 4 cerdas finas distalmente, 2.º articulo longo cerdado distalmente; 3.º articulo curto mais estreito que o 2.º; flagelo de 45 articulos os primeiros articulos mais curtos e grossos os ultimos mais finos e longos. II antena maior que a I, isto é cerca de 1/10 maior; o seu pedunculo 3-articulo é 3/2 maior, tem o 1.º articulo curto e grosso, o de mesmo comprimento que o 3.º mas mais grosso; tem 30 articulos. As antenas fortissimamente hirsutas, encabeladas, e suas cerdas são delicadamente penadas. Labio superior não inciso, arredondado, piloso. (fig. lab. sup) Mandibula de palpo 3articulado o topo do palpo com 15 cerdas curtamente pectinadas. Parte incisiva armada com alabarda tridentada, seguida de uma outra alabarda larga 5-dentada e outra estreita bidentada; seguem-se uma armadura de 5 alfanges farpados, externamente com 5 — 7 pontas agudas recurvas. Com os lobos presentes chanfrados e pilosos.

I maxila com palpo triarticulado 1.º e 2.º articulos pequenos subiguais, 3.º articulo alargado em clava, armado com 5 bulhões recurvos 4 espinhos, 3 cerdas; lamina interna com 2 fortes bulhões recurvos, 6 dardos de 8 farpões cada um, 1 dardo de 2 pontas. II maxila — a 2 laminas ovoides de mesma altura quasi, cerdadas, maxilipodo com lamina da base ornada de longos pelos que se curvam facilmente e distalmente armada com 2 bulhões 1 maior outro menor; isquio tendo uma larga lamina sub-ovoide, de margem interna quasi reta, com 10-12 espinhos em ponta de gladio, que mais para o distal já levam o aspecto de framea, em numero de 3 e no topo transformam-se em alfanges farpados em numero de 4. Palpo com 4 articulos, com cerdas pectinadas transversalmente; dactilo aspero como uma groza, terminando em fino alfange serrilhado por dentro.

ESTAMPA 25



ESTAMPA 26



1.º gnatopodo, comprido de carpo muito longo, com a margem posterior com mais de 20 denteações onde se inserem tufos de cerdas longas penadas; propodo sub-ovoide, muito simétrico, de margem dactilar quasi igual á carpal; margem anterior com 5 pentes de cerdas, face com 3 pentes, margem posterior com 8 pentes, e 1 espinho em forma de gládio. Depois deste gladio segue a margem dactilar toda cerdada e áspera, dactilo recurvo em foice serilhada por dentro. II gnatopodo de mão maior e mais grossa que o I.º; carpo curto, muito cerdado, com a margem posterior menor que a anterior; propodo sub-oval, margem anterior com 15 saliencias para inserção de cerdas, margem posterior com 6 saliencias, que acabam em uma elevação, segue-se a margem dactilar, reta aspera e muito cerdada margem dactilar muito menor que carpal, Dactilo muito recurvo, quasi em semi-circulo, sua ponta é rombuda. O 1.º e 2.º par de patas, pequenos, como os do genero *Grubia* 3.º, 4.º e 5.º cada qual maior; 4.º pereiopodo dactilo em alfange lisa; propodo tendo a margem anterior armada com 4 espinhos pequenos e 5 espinhos retos, em feitio punhal; margem posterior desarmada, e com muitas cerdas, e como que em um calcanhar feixe de uns 20 longos pêlos finos pouco flexiveis.

Carpo muito cerdoso desarmado. Mero armado a 1 espinho em punhal e outro em cimitarra. Isquio, curto, cerdoso, desarmado, base larga, armada anteriormente a 2 espinhos, posteriormente a 1 espinho.

5.º pereipodo mais ou menos parecido com o 4.º, mas tendo a base armada com 2 grandes e 3 pequenas espinhos anteriormente, e 2 espinhos posteriormente. Pleopodos biramosos. 1.º par de uropodos é o mais longo de ramos desiguais; com a extremidade dos ramos cada uma com 3 espinhos em adaga, e cada margem com 6 adagas; pedunculo com 7 espinhos em gládio. II.º uropodo com 2 ramos desiguais, cada um com 3 adagas (alargadas em frâmea) em cada ponta; e 5 adagas em cada margem interna e externa; 3.º uropodo de ramos quasi de mesmo comprimento o mais curto tem 2 espinhos uncinados em árpeo e o mais curto é mais largo tem 3 espinhos em adaga e varias cerdas irradiando do tôpo na parte mediana 2 adagas; borda do pedunculo a 4 gladios. Telson sub-trapezoidal, margem terminal arqueada levemente.

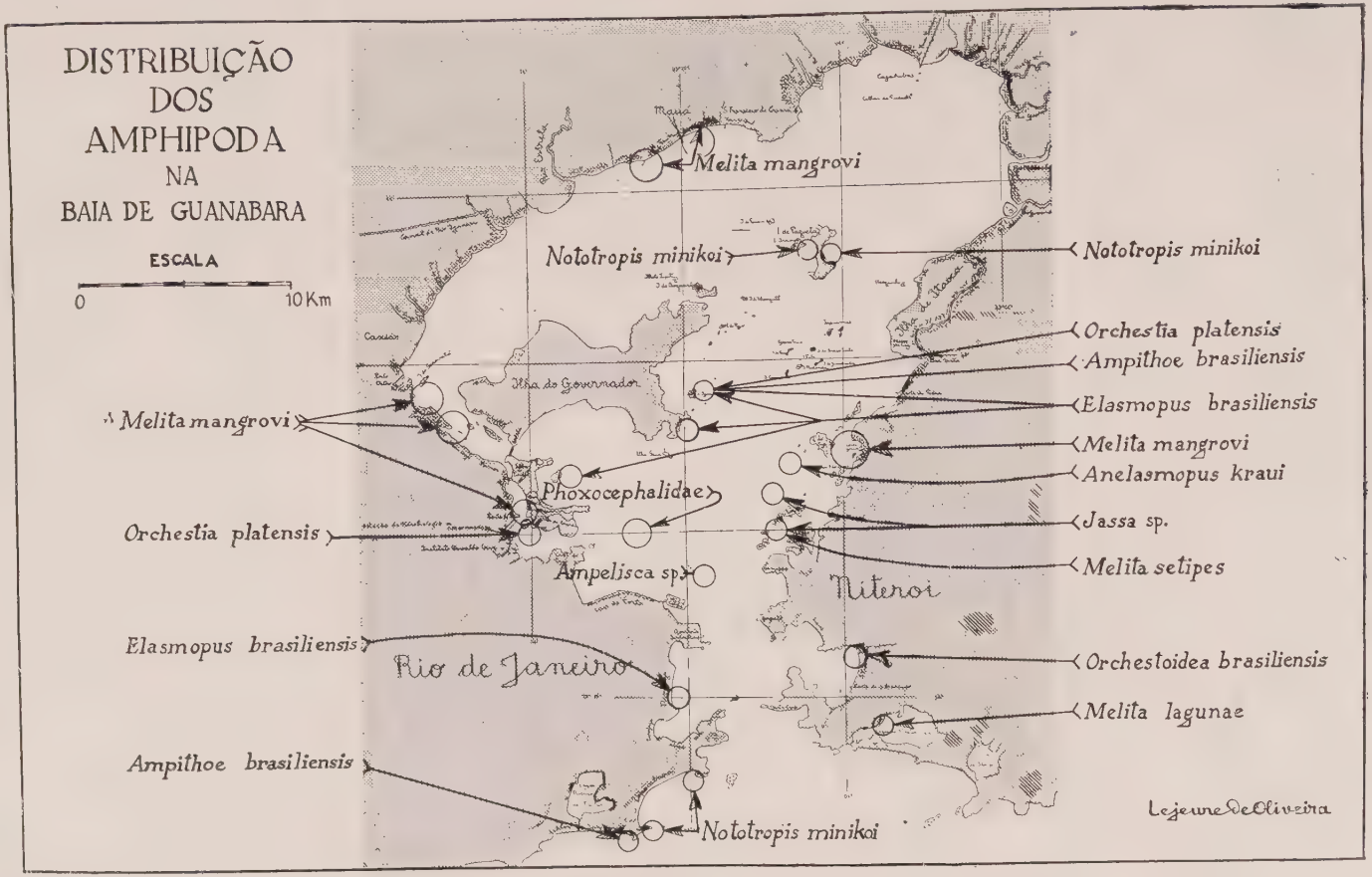
MEDIDAS: —

O exemplar macho n.º 1104 mede 20,5mm. da cabeça ao uropodo. Outras medidas vide Estampas 25 e 26.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRAFICA

Baia de Guanabara: 1m de profundidade.

MATERIAL. — 2 exemplares machos. — Catalogo n.º 1002, 1 exemplar macho, inteiro em alcool (não determinado por dissecção mas apenas por ser semelhante ao holotipo e capturado no mesmo local.)


DISTRIBUIÇÃO
DOS
AMPHIPODA
NA
BAIA DE GUANABARA
ESCALA
0
10 Km
Melita mangrovi
Nototropis minikoi
Nototropis minikoi
Orchestia platensis
Ampithoe brasiliensis
Elasmopus brasiliensis
Melita mangrovi
Anelasmopus kraui
Jassa sp.
Melita setipes
Orchestoidea brasiliensis
Melita lagunae
Melita mangrovi
Phoxocephalidae
Orchestia platensis
Ampelisca sp.
Elasmopus brasiliensis
Ampithoe brasiliensis
Nototropis minikoi
Ilha do Governador
Niteroi
Rio de Janeiro
Lejeune de Oliveira

ESTAMPA 27

Catalogo n.º 1004 um exemplar macho, de Corôa Grande, 31 de Janeiro de 1949, dragagem a 1m. de profundidade entre ilhas do Fundão e Governador, apanhou-se junto a ouriços *Lytechinus variegatus*.

Este holotipo foi desenhado inteiro, depois dissecado e montado em 2 laminas n.º 2969 — 2980, (não havendo mais o tubo com o material 1004).

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS

Todas as figuras estão com as letras assinaladas pelo alfabeto carcinologico de BATES:

A — I somito do cephalon.
B — II somito, levando ..... b — I antena
C — III somito, levando ..... c — II antena
D — IV somito, levando ..... d — mandibula
E — V somito, lenvando ..... e — I maxila.
F — (I do mesosoma), levando ..... f — II maxila.
G — (II do mesosoma), levando ..... g — maxilipodo.
H — (III do mesosoma), levando ..... h — I gnatopodo.
I — (IV do mesosoma), levando ..... i — II gnatópodo.
K — I do pereon, levando ..... k — I pereópodo.
L — II do pereon, levando ..... l — II pereópodo.
M — III do pereon, levando ..... m — III pereópodo.
N — IV do pereon, levando ..... n — IV pereópodo.
O — V do pereon, levando ..... o — V pereópodo.
P — 1.º do pleon, levando ..... p — 1.º pleópodo.
Q — 2.º do pleon, levando ..... q — 2.º pleópodo.
R — 3.º do pleon, levando ..... r — 3.º pleópodo.
S — 4.º do pleon (1.º do urosoma) ..... s — 1.º urópodo.
T — 5.º do pleon (2.º do urosoma) ..... t — 2.º urópodo.
V — 6.º do pleon (3.º do urosoma) ..... v — 3.º urópodo.
Z — Telson .....

lab. sup. — labio superior; *lab. inf.* — labio inferior articulos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 antes ou depois das letras correspondem ao 1.º, 2.º, 3.º, 4.º, 5.º, 6.º e 7.º articulos deste apendice: exemplo h5 = 5.º articulo do I gnatopodo.

esq. — esquerdo; *dir.* — direito.
♂. — macho ♀. — femea.

Estampa 2: *Nototropis minikoi*. Desenhado por Edith da Fonseca.
Estampa 3: *Melita mangrovi*. Des. por Edith da Fonseca.
Estampa 4: *Melita mangrovi*. Desenhado por Rui.

Estampa 5: *Melita lagunae*. Desenhado por E. da Fonseca.
Estampa 6: *Melita lagunae*. Desenhado por E. da Fonseca.
Estampa 7: *Melita setipes superba*. Des. por E. da Fonseca.
Estampa 8: *Anelasmopus kraui*. Des. E da Fonseca.
Estampa 9: *Anelasmopus kraui*. Des. E. da Fonseca.
Estampa 10: *Orchestia platensis*. Des. por E. da Fonseca.
Estampa 11: *Orchestia platensis*. Des. por G. Sidwell.
Estampa 12: *Orchestia platensis*. Des. por E. da Fonseca.
Estampa 13: *Orchestoidea brasiliensis*. Des. E. da Fonseca.
Estampa 14: *Orchestoidea brasiliensis*. Des. G. Sidwell.
Estampa 15: *Hyale antares*. Des. E. da Fonseca.
Estampa 16: *Hyale antares*. Des. por G. Sidwell.
Estampa 17: *Hyale media*. Des. por E. da Fonseca.
Estampa 18: *Hyalella curvispina cangallensis*. Des. por E. da Fonseca.
Estampa 19: *Hyalella curvispina cangallensis*. Des. por E. da Fonseca.
Estampa 20: *Allorchestes chelonites*. Des. por G. Sidwell.
Estampa 21: *Allorchestes chelonites*. Des. E. da Fonseca.
Estampa 22: *Ampithoe brasiliensis*. Animal em corpo inteiro des. por E. da Fonseca; as peças pelo autor.
Estampa 23: *Ampithoe brasiliensis*. Des. pelo autor.
Estampa 24: *Ampithoe filicornis* (copia, des. pelo autor) Proporções entre *filicornis* e *brasiliensis* — original; des. pelo autor.
Estampa 25: *Grubia sardenta*. Des. por E. da Fonseca
Estampa 26: *Grubia sardenta*. Des. por E. da Fonseca.
Estampa 27: Mapa da Baia de Guanabara, com a distribuição dos *Amphipoda* tratados nesta publicação; desenhado pelo autor.

BIBLIOGRAFIA

AUDOUIN, J. V.
1825. Explication sommaire des planches dont les dessins ont eté fournis par M. J. C. Savigny (Description de l'Égypte), pl. XI *Gammarus fresnelii,* fig. 3, 1.

BARNARD, K. H.
1932. *Amphipoda*. Discovery Reports, vol. V, pp. 1-326, Cambridge.

BARNARD, K. H.
1940. Keys to the identification of South African *Tanaidacea, Isopoda* and *Amphipoda*. Ann. of the S. African Museum, vol. 33, part 5, pp. 487-543.

BATE, C. S.
1862. Catalogue of the specimens of Amphipodous Crustacea in the collection of the British Museum London. 1 vol., 392 pp. e 58 pls.

BOECK, A.
1860. Bemaekninger Amphipoder. Kjobenhavn. 677 pp.

BOECK, A.
1876. Skandinavske Amphipoder. Christiania.

BOSC, L. A. G.
1802. Histoire Naturelle des Crustacés.

BRANDT, F.
1851. Middendorf's Reise. Vol. II, parte I; *Amphipoda* p. 130-144. S. Petersburg.

BRUZELIUS,
1859. Skandinaviens Amphipoda Ganmaridea. K. Sv. Vet. Akad. Hand. vol. 3, n.º 1, pp. 1-104.

CALMAN, W. T.
1898. Ann. N. Y. Acad., vol. 11, p. 265.

CALMAN, W. T.
1909. The Amphipoda, cap. XIII, pp. 224-243; em "A Treatise on Zoology Ray Lankester" Part. 7, 3.º fasciculo. London.

CHEVREUX, E.
1887. Catalogue des Crustacés Amphipodes marins. Bull. Soc. Zoologique de France, vol. 12, 54 pp.

CHEVREUX, E.
1888. *Orchestia incisimana* em: Comptes Rendus Assoc. fr., vol. 2, p. 346.

CHEVREUX, E.
1900. Amphipodes. Res. Camp. Sci., Monaco, vol. 16.

CHEVREUX, E. & FAGE, L.
1925. Amphipodes. Faune de France, 9, pp. 1-488, 438 figs., 1 vol., Paris.

CHEVREUX, E.
1911. Campagnes de la "Melita": Amphipodes d'Algerie Mem. Zool., vol. 23, p. 146-285, XX pls.

CHILTON, C.
1909. The Crustacea of the Sub-Antartica Islands of New Zealand. Subant. Isl. N. Z., vol. 2, 601-671.

CHILTON, C.
1921. Fauna of the Chilka Lake. Mem. Ind. Museum, vol. 5, 521-556.

CHILTON, C.
1925. Some Amphipoda in the Buenos Ayres National Museum. Com. Mus. Nac. Hist. Buenos Ayres, II, p. 175-180.

COSTA, A.
1853. Anfipodi del Regno di Napoli. 178 pp.

COSTA, A.
1857. Anfipodi del regno di Napoli. Mem. R. Acad. Sci. Napoli, vol. I, pp. 165-235; Pl. I-IV.

CZERNIAVSKI (ou tambem TSCHERNJAFSKI, W.)
1868. Materialia ad Zoographiam. Univers. Charcoviensis.

DANA, J. D.
1852. U. S. Exploring Exped. during the years 1838-42. Vol. XIII text e tambem:

DANA, J. D.
1854. Atlas, Philadelphia. Amphipoda pls. 54-69.

DESMAREST, A. G.
1825. Considerations g. s. 1. classe des Crustacés. Paris.

GILES, G. M.
1890. *Melita cotesi,* J. Asiatic. Soc. Bengala, vol. 59.

GOODSIR, H. D. S.
1845. Descriptions of some animals found among the Gulf Weed. Ann. Mag. Nat. Hist., vol. 96, 15, London.

GUERIN-MENEVILLE, F. E.
1829-1844. Iconographie du Regne Animal de G. Cuvier. Vol. II e III, Paris.

HASWELL, W. A.
1880. On Australian Amphipoda. Proc. Linn. Soc. N. S. Wales, vol. 4, pp. 245-279, pl. vii-xii.

HERBST, J. F. W.
1796. Krabben und Krebse. 2 vols. 25 estampas. Berlin, und Straslund.

HOLMES, S. J.
1904. The Amphipoda of S. New England Bull. Bureau Fissheries, vol. 24, 457-529.

KROYER, H.
1845. Karcinologiske Bidrag. I vol. Copenhague (Amphipoda: pp. 283-345) e (453-638).

KUNKEL, B. W.
1918. The *Arthrostraca* of Connecticut. Connect. Geol. and Nat. Hist. Survey, vol. 26.

LATREILLE, P. A.
1802. Histoire Naturelle des Crustacés. Vol. I-IV, Paris.

LATREILLE, P. A.
1817. Le Regne Animal. Vol. 3, com crustaceos (Cuvier). Paris.

LATREILLE, P. A.
1829. Le Regne Animal. Vol. 4.

LEACH, W. E.
1813-14. Crustaceology. The Edinb. Enciclopedia. Vol. 7, e Appendix: pp. 429-437.

LILJEBORG (ou tambem LILLJEBORG, W.)
1849. Zoologisk Ryss. & Finm. Estocolmo.

LILLJEBORG, W.
1865. Bidrag Amphipoda. Upsala, Nova Acta R. Soc. Scient. III serie.

LORIET, L.
1883. Lac. Tieberiadis — Arch. Mus. Lyon, vol. 3.

MAITLAND, R. T.
1876. Determin. der Tiere. Rotterdam, 1 vol.

MYERS, E. J.
1875. Descriptions of n. sp. of *Crustacea*. Ann. Mag. Nat. Hist. Ser. 4, vol. 16, 73-76, 115-118.

MILNE-EDWARDS
1834 a 1840. Histoire Nat. des Crustacés. 3 vol., 1 atlas. Paris.

MONOD, T.
1926. Tan., Isop., et Amphipodes. Res. Voyag. Belgica, p. 1-67.

MOREIRA, C.
1903. Uma especie nova de Amphipode orchestideo. Arch. Mus. Nacional, vol. 12, p. 187.

MUELLER F.
Obras completas.

NICOLET, H.
1849. Historia de Chile. Zool., vol. 3. Paris.

OLIVEIRA, L.
1952. The genus *Elasmopus*. Bol. Inst. Ocean. S. Paulo.

OFTMANN, A. E.
1911. Crustacea of Southern Patagonia. Rep. Princeton Univ. Exp. Patag., vol. 3, pp. 650.

PIRLOT, J. M.
1930. Les Amphipodes de l'Expedition du Siboga, vol. 33. Siboga Exped. Monogr.

RATHKE, M. H.
1837. Beitrag zur Fauna der Krym. Mem. Acad. Imp. Sci. S. Petersburg, vol. 3, 371-380.

SARS, G. O.
1890. Crustacea of Norway, vol. I text e pls.

SAVIGNY, M. J. C. L.
1816. Mem. sur les Animaux sans Vetebres. I fasc. Mem. 1 e 2. Paris.

SMITH, S. I.
1874. The Crustacea of fresh-water of the U.S.A., Washington.

SCHELLENBERG, A.
1925. *Amphipoda*. Beitr. Kennt. Meeresf. West Afric., vol. 3, Lf. 4, 113-204.

SCHELLENBERG, A.
1926. *Amphipoda*, Die Gammariden der Deutschen Sued-polar Expedition, 1901-1903. Deutsc. Süd-pol. Exp., vol. 18, Zool., vol. X.

SCHELLENBERG, A.
1928. Report on the Amphipoda. Tr. Zool. Soc., London, vol. 22.

SCHELLENBERG, A.
1931. Gammariden und Caprelliden des Magellan gebietes. F. Zool. Res. Swed. Ant. Exp., vol. 2, Estocolmo.

SCHELLENBERG, A.
1932. Zool. Anz. 101.

SCHELLENBERG, A.
1936. Zwei neue Amphipoden des Stilles Ozeans u. zwei Berichtigungen. Zool. Anz., 116 (5-6) p. 153.

SCHELLENBERG, A.
1938. Brasilianische Amphipoden, mit biologischen Bemerkungen. Zool. Jahrb. Jena., vol. 71, n.º 3, 203-218.

SCHELLENBERG, A.
1943. Süszwasseramphipoden (Crust) Beiträge zur Fauna Perus, vol. 2, 217-223.

SHOEMAKER, C. R.
1926. Amphipods of the family *Bateirae* in the collection of the U. S. N. Museum. Proceeding of the U. S. N. Museum, vol. 68, Art. 25, pp. 1-26.

SHOEMAKER, C. R.
1930. Descriptions of Two New Amphipod Crustaceans (*Talitridae*) from the U. S. Journal of the Washington Acad. of Scie., vol. 20, N.º 6, pp. 107-114.

SHOEMAKER, C. R.
1932. Notes on *Talorchestia fritzi* Stebbing. Journ. of the Washington Acad. of Sci., vol. 22, N.º 7, pp. 184-187.

SHOEMAKER, C. R.
1932. The *Amphipod: Nototropis minikoi* on the East Coast of the U. S. Proc. Biol. Soc. of Washington, vol. 45, pp. 199-200.

SHOEMAKER, C. R.
1934. Three New Amphipods. Smiths. Misc. Collect., vol. 91, N.º 12.

SHOEMAKER, C. R.
1935. *Amphipoda*. New York Acad. Scien. Scientif. Survey of Porto Rico, vol. 15.

SHOEMAKER, C. R.
1936. The occurrence of the terrestrial amphipods, *Talitrus alluaudi* and *Talitrus sylvaticus*, in the U. S. Jour. of the Washington Acad. of Sci., vol. 26, N.º 2, pp. 60-64.

SHOEMAKER, C. R.
1942. A new species of *Amphipoda* from Uruguay and Brazil. Jour. of the Washington Acad. of Sci., vol. 32, N.º 3, pp. 80-82.

SHOEMAKER, C. R.
1943. A new Amphipod of the genus *Corophium* from Florida; The Charleston Mus. Leaf. n.º 18.

SHOEMAKER, C. R.
1945. The Amphipod Genus *Unciola* on the Eest Coast of America. "The American Midland Naturalis". Vol. 34, N.º 2, pp. 446-465.

SHOEMAKER, C. R.
1947. Further notes on the amphipod genus *Corophium* from the east coast of America. Jour. The Washington Acad. of Sci., Vol. 37, N.º 2, pp. 47-63.

SHOEMAKER, C. R.
1948. The *Amphipoda* of the Smithsonian-Roebling Expedition to Cuba. Smiths. Misc. Collect., Vol. 110, N.º 3, pp. 1-15.

STEBBING, T. R. R.
1888. Report on the Amphipoda. Rep. Voy. Challenger, vol. 29. London.

STEBBING, T. R. R.
1906. *Amphipoda* I, Das Tierreich, Lfg. 21. Berlin.

STIMPSON, W.
1851. Synopsis of the marine invertebrata of Grand Manan — 1853. Smithsonian Contr., vol. 6, 1851.

VALLE, DELLA A.
1893. Gammarini del Golfo di Napoli Fauna u. Flora des G. von Neapel., vol. 20, texto e Atlas.

WALKER, A.
1905. Em Gardiner: Fauna Mald. Laccad. Archip., vol. 2. Sup. 1. 1916.

WRZESSNIOWSKI, A.
1897. Vorläufige Mitt. über einige Amphipoden. Zool. Anz. II Jahrg., pp. 175-302, 569.

Observações hidrobiológicas na cisterna da Ilha do Pinheiro

por

Lejeune P. H. de Oliveira
Encarregado da Estação de Hidrobiologia

Luiza Krau
Assistente da Estação de Hidrobiologia

Rubem do Nascimento
da Divisão de Química e Farmacologia

(com 14 figuras)

A cisterna em estudo fica na parte sul da Ilha do Pinheiro, no recôncavo oeste da Baía de Guanabara, defronte a Praia de Inhauma da Cidade do Rio de Janeiro. Ela se acha na posição apresentada pelo mapa da figura 1. Está a 90 metros da Praia dos Macacos banhada pela semi-salobra Enseada de Inhauma. Ao lado da cisterna houve um antigo Nicho do Jesuíta, hoje em ruínas, ao pé deste começa o morro do Pinheiro que vai em rampa forte até aos prédios da Estação de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz localisados a 24 metros de altitude.

A soleira da cisterna está na altitude de 3,52 m., sua boca tem 2,26 m. de diâmetro, sua parede lateral perfeitamente cilíndrica é obra de antiga cantaria, feita em granito que recobre até a profundidade de 4 m. A figura 3 representa um corte desta cisterna. Conforme explica a figura 2: a Praia dos Macacos (moderno nome devido a criação de *Macaccus rhezus* em liberdade existentes nesta ilha) é banhada pelas águas da Enseada de Inhauma cuja salinidade varia de 27 até 33 por mil, e há um mangrove com as árvores do mangue *Rhizophora mangle, Avicennia tomentosa, Laguncularia racemosa* depois seguido de uma restinga que se enche e se esvazia permanentemente, alternando com as marés.

Habita em seu interior barrento e salobro uma população de caranguejinhos chama-maré *Uca pugnax* e mais para dentro ha buracos dos grandes guaiamús *Cardisoma guanhumi* em terra mais consistente. Desta restinga, do local onde houve uma comporta, a comporta "Nogueira Penido", hoje um sangradouro, até ao local da cisterna vão 100 metros, tomados em linha reta. A cisterna foi cavada em terra vermelha, não arenosa, em terreno de barreira terciário. No correspondente á terra húmida, e na parte mais clara o que é terra sêca, não empapada de água. A vizinhança do mar confere um certo

grau de infiltração pelas águas da Baía de Guanabara. Esta infiltração geralmente só influe no fundo: aí ficam as águas mais salobras quando em repouso longo, devido a sua densidade maior não tornando as águas mais leves, densidade = 1,0037, superficiais, mais salobras. Uma grande mangueira e um pé de jamelão fazem sombra ás águas dêste poço e nele deixam cair sua fôlha desde 1938.

Uma das razões pelas quais este poço foi escolhido para estudo é ser consagrado ao exercício prático dos estudantes de hidrobiologia feito junto á parte teórica do curso ministrado no Laboratório de Hidrobiologia.

Prevenimos que entre as dificuldades ao estudar biològicamente uma massa de água encontram-se sobretudo as pertubações artificiais decorrentes do uso do poço pelo povo quando vai retirando a água. Realisa-se assim um remexer contínuo e ha sempre uma massa de água retirada e ha outra nova entrada de origem telurica, de modo que pouco o hidrobiologista poderá decidir sobre tal ciclo. Evitamos suficientemente tais causas de êrro pela escolha desta cisterna, que está abandonada, e que foi cavada ha mais de um século pelos antigos moradores da ilha do Pinheiro; hoje ninguém nela toca a não ser os técnicos para seus estudos e observações.

Anteriormente a 1938 a água deste poço era doce e relativamente potável, foi usada para irrigar as hortas que haviam na ilha. Houve em 1938 uma limpeza. Esta limpeza foi possível, segundo contou-nos o vigía da Ilha do Pinheiro, no período de grande sêca e foi feita pelo Sr. Dario Lopes, antigo pescador do Instituto Oswaldo Cruz, residente na ilha até ao dia de sua morte. O nível deveria estar a 1 m. acima do fundo atual, era todo de fôlhas sêcas, e nesta ocasião cavaram em sêco até ao nível de 50 centímetros abaixo do nível médio do mar, que é o fundo marcado na cota de 4 m. da régua limnográfica (fig. 3).

No tempo de uma grande enchente, em 1940, quando houve uma inundação em que todos os trilhos da Estrada de Ferro Leopoldina Railway da zona suburbana de Manguinhos e de Bonsucesso ficaram debaixo dágua, esta cisterna soltava suas águas doces a grande vazão pelas bordas, a 3,42 m. Com efeito concebe-se que ela deverá se comunicar com o lençol de água subterrânea que a alimenta, em terreno possìvelmente terciário de barro vermelho, e êste deve passar por baixo da Enseada de Inhauma da qual deverá ser isolado por uma camada geológica impermeável ou mesmo pela argila preta impermeável do fundo da enseada. Resulta desta exposição o fato de que se o nível estêve por vêzes muito abaixo, por vêzes muito acima, do nível médio do mar, não devendo haver uma comunicação direta com o mar. Como as vêzes fica ligeiramente salobra, a explicação que podemos dar é a seguinte: nos dias de sêca ha uma retenção de sais no manguesal pelas águas de preamar que o cobrem e evaporam; depois a chuva lavando-as leva uma certa quantidade de sais para as águas subterrâneas que vão alimentar a cisterna. Nos dias em que suas águas estiveram acima do nível médio do mar, em 1940, ela se limpou muito, por efeito de transbordamento, e segundo os antigos moradores da ilha a água ficou òtimamente potável por

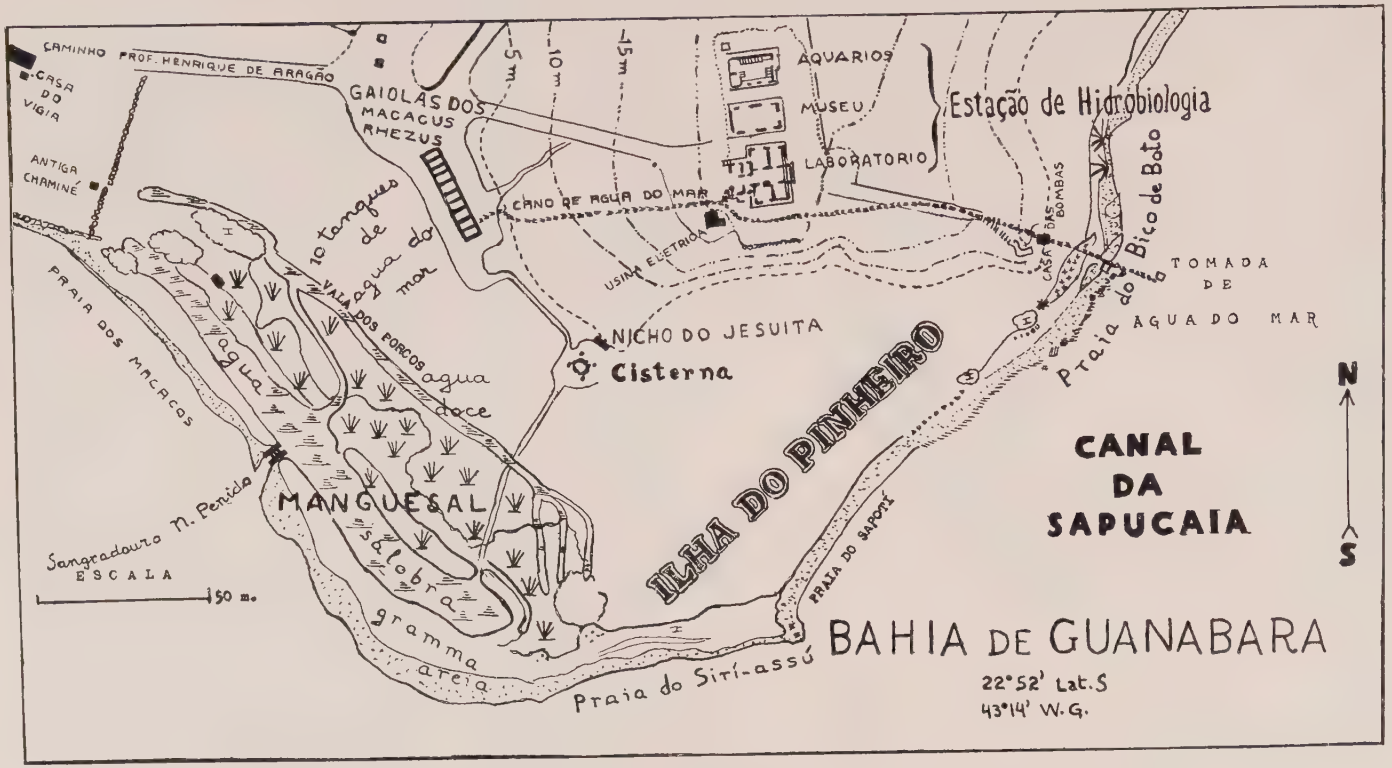


Figura 1 — Parte sul da Ilha do Pinheiro, extraída da planta levantada por Lejeune de Oliveira para o próximo trabalho a aparecer em breve: "Sôbre o crescimento do manguesal em 50 anos na Ilha do Pinheiro".

cêrca de um ano; também as abundantes chuvas lavaram todos os sais nas terras permeáveis dos manguesais.

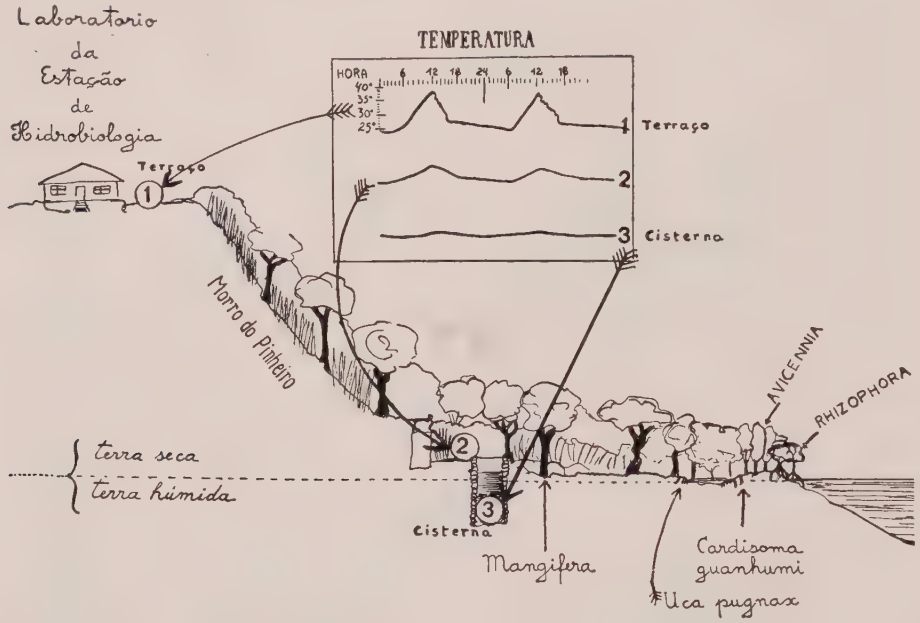


Figura 2 — Uma esquema mostrando um perfil desde á Práia dos Macacos até ao Laboratório de Hidrobiologia, passando pela cisterna. Sugerimos no esquema as diferenças de temperatura do ar, e a constância da temperatura da água da cisterna. Vê-se junto ao mar o manguesal com as árvores de mangue *Rhizophona, Avicennia,* e os buracos dos guaiamús *Cardisoma guanhumi* e dos chama-marés *Uca pugnax*. A o pé da cisterna uma mangueira *Mangifera*.

Lembremo-nos que foi em 1944, quando o Prof. Dr. Henrique de Aragão era diretor do Instituto Oswaldo Cruz, que êle mandou colocar uns peixinhos *Lebistes reticulatus* e algumas plantas popularmente chamadas de elodeas, (as *Anacharis canadensis*) dentro da cisterna.

A primeira análise química feita em 28 de agôsto de 1950 pelo Dr. Rubem do Nascimento mostrou os seguintes resultados:

Resíduo	2,11	mg.l.
Dureza total em CaCO3	470,11	mg.l.
Dureza cálcica	260	mg.l.
Acidez em CaCO3	18,0	mg.l.
pH	7,7	
Cálcio em Ca	104,0	mg.l.
Magnésio em Mg	50,4	mg.l.
Cloreto em Cl	894	mg.l.
Nitratos em N	0,008	mg.l.
Nitritos em N	0,001	mg.l.
Fosfato em PO4	0,36	mg.l.
Matéria orgânica em oxigênio consumido em meio ácido	4	mg.l.

Nesta data a cisterna tinha águas transparentes, com os ramos de *Anacharis* muito abundantes, mas quasi sem *Lemna*, tendo entre as fendas das pedras 3 ou 4 rãs *Hyla* que se nutriam a expensas dos produtos da cisterna. Havia alguns peixinhos *Lebistes reticulatus* que se alimentavam principalmente de *Ostracoda* e *Copepoda*. A água era de pH = 7,1;

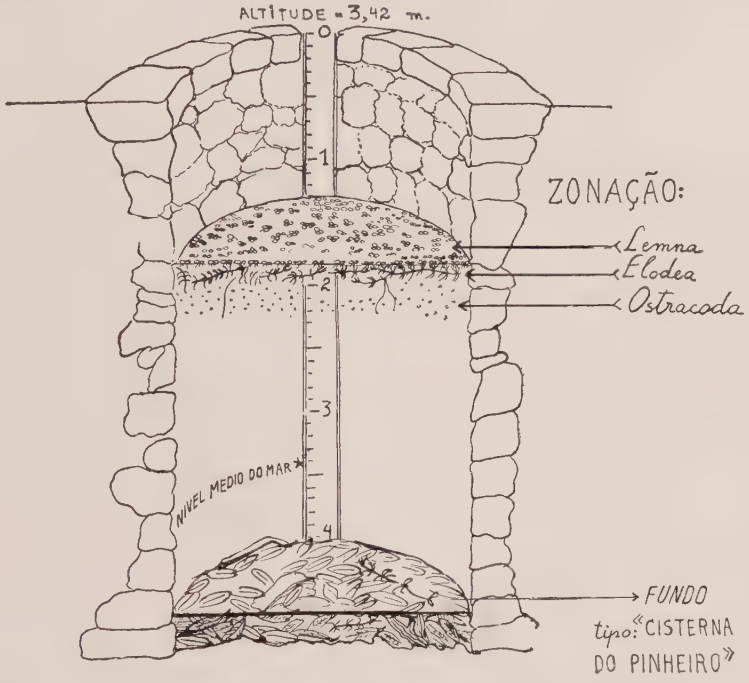


Figura 3 — Um corte do poço. A escala representa a régua para anotar as cotas limnográficas, está graduada de 0 a 4 metros. Vê-se o tapete de *Lemna*, pouco abaixo as *Elodea* e entre esta última e pouco mais para o fundo a população de crustáceos *Ostracoda* do gênero *Spirocypris*.

os cloretos estavam a 894 mg.l., teor que já representa uma infiltração de 4,7% de água do mar, tornando-a mediocremente potável; os nitratos e fosfatos estavam, como se vê, em dose de adubagem. Somos obrigados a pensar que êstes fosfatos deveriam provir da decomposição de fôlhas mortas e da carne e de ossos de todos os animais que lá viviam e depois morriam lá deixando seus cadáveres. Conquanto o resíduo fôsse muito alto, aliás favorável á produtividade, esta não é grande nesta cisterna; uma das causas é a pequena iluminação recebida. Acrescentemos que de vez em quando caía um pequeno animal dentro da cisterna: entre êles um outro urubú, segundo foi visto pelas penas e pelo esqueleto quando fizeram a limpeza em 1938, e também várias vêzes por nós nas nossas dragagens. Os urubús vêm comer carniça no lixo do Cajú aqui ao sul e em frente á ilha do Pinheiro, e depois para êles irem á Santa-Cruz pousavam na Ilha do Fundão (mas esta ilha pas-

sou para a cidade Universitária e os pousos foram acabados) agora êles pousam nas árvores da Ilha do Pinheiro. Em dezembro de 1951 caiu um porquinho de 7 kilos lá dentro, lá morreu, e foi retirado no dia seguinte. Depois desta ocasião o poço foi gradeado e nunca mais nenhum animal caiu. Em junho de 1952 houve dois casos de malária aqui na ilha, e desde esta ocasião houve intensa dedetisação para combate aos mosquitos, isto é o que causou não haver nenhuma referência a insetos nas águas desta cisterna, pois que êles não existem.

DADOS LIMNOGRÁFICOS

NÍVEL DAS ÁGUAS — Tomando como ZERO a soleira da cisterna, teremos 4 metros para a profundidade máxima, quando estiver sêca. Estas cotas se lêm na régua limnográfica. Os níveis variaram pouco em 1952:

TABELA

	Nível pelo limnografo	Altitude
17–25 Maio	1,30	2,12
25–30 Maio	1,33 — 1,30	2,09 — 2,12
30 Maio–6 Junho	1,30 — 1,32	2,12 — 2,10
6 Junho	1,30	2,12
13 Junho		
os 12 horas	1,20	2,22
os 18 horas	1,24	2,18
14 Junho	1,15	2,37
18 Junho	0,90	2,52
19 Junho	0,80	2,62
1 Julho	1,0	2,42
14 Julho	1,20	2,22

Cumpre notar que no nível das águas da cisterna há sempre variação diurna acompanhando simultâneamente o ritmo das marés, e nós pudemos perceber muito bem nos dias sêcos de maio de 1952, quando observamos detalhadamente êste assunto. Em 23 de maio ás 8 horas e 30 minutos, na Praia dos Macacos, a maré estava a 0,00 m. do nível médio, quasi tão baixa como em certas marés de julho e de agôsto, e esta maré se elevou para 1,20 m. ás 14 horas e 20 minutos, no dia seguinte estava a 0,0 m. N.M. ás 9 horas e 15 minutos depois se elevando até 1,20 m. ás 15 horas. O nível da cisterna sòmente variou de 1,33-1,41 m. limnográficos, fazendo uma amplitude total de 7 centímetros; êste fenômeno nos mostra que embora muito pequena há sempre uma certa influência marítima, as águas da maré comprimem as águas doces do lençol subterrâneo, cujo efeito aparece no nível da cisterna. Estas observações foram conduzidas devido a falta de chuva em maio, pois estas sempre alteram os níveis das águas.

Depois de 17 de maio, a primeira chuva ocorreu a 6 de junho, durando desde 8 horas da manhã até ao meio-dia, foi muito forte, pois

caiu na zona da cisterna 39 litros de água por metro quadrado, o que corresponde a ter caído dentro da cisterna 130 litros (sua superfície exposta é de 3,34 m^2; 39 $\times$ 3,34 = 130,2). Ora, a cisterna na cota em que estava tinha 9.103 litros de água, a queda de chuva veio diluir a salinidade (expressa em clorinidade de Cl = 2,32 por mil, para 2,30 e afetou sòmente a segunda casa decimal; expliquemos mais detalhadamente: na cisterna que estava com 9.103 litros com 23,2 kilos de Cl, após as chuvas êstes se acharam em 9.233 litros. A mudança foi tão pequena que a cisterna não subiu nem mesmo 1 centímetro no seu nível limnográfico, mantendo-se em 1,33 m. Porém 24 horas após, em 7 de junho, é que o nível da cisterna subiu: passou de 1,33 para 1,30 m. limnográficos, e a clorinidade caiu para 2,1. Ora se a cisterna subiu de 1,33 para 1,30 — ela subiu de 3 centímetros, o que corresponde a 100,2 litros, pois cada centímetro que sobe a água da cisterna são 33,4 litros; êstes 100 litros não dariam para baixar a clorinidade até 2,1 como foi verificado. Apreciação incontestável é que seja o efeito de diluição por capilaridade por permeabilidade da terra, é que fêz com que o teor de cloretos caisse a 2,1 por mil. Êste corresponde a um efeito de diluição de 943 litros, e não de 100 litros apenas. Então houve após estas primeiras chuvas os seguintes efeitos: 130 litros influenciaram a composição química das águas, por ser chuva caída diretamente dentro da cisterna, e mais 843 litros por trocas com águas telúricas difundidas e misturadas por capilaridade, sendo 130 litros "limnográficos" os que fizeram o nível da mesma subir 3 centímetros.

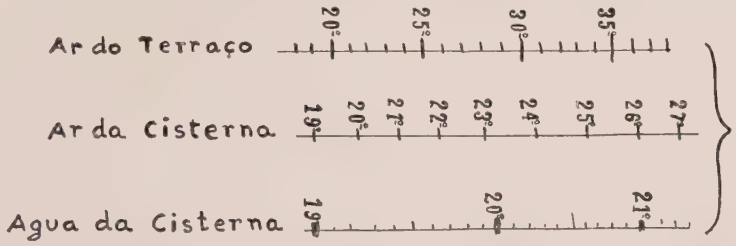


Fig. 4

TEMPERATURA — A temperatura das águas da cisterna é quasi constante, como se fôsse um aquário regulado para 19 — 20 °C. Em Maio de 1952 a temperatura oscilou de 19° para 21°. Se compararmos com as temperaturas do ar no Terraço da Ilha (fig. 2) onde o sol bate diretamente não, havendo sombra a nenhuma hora do dia, veremos que houve neste dia uma variação de 20° até 38° C., mas no ar junto da cisterna houve uma variação menor, oscilando sòmente de 19° até 27°, porque o ambiente é protegido por árvores e pelo Morro do Pinheiro. Junto da cisterna há humidade do ar, principalmente á noite: de 18 horas até 6 horas da manhã encontramos 87% até 91% de humidade. Ás 10 horas do dia esta caía para 30 % no Terraço da Ilha, o que não acontecia, nem acontece nunca junto á cisterna aonde a humidade se mantém sempre, mesmo ao meio-dia. Durante o mês de Maio houve uma oscilação de 2° C. nas águas da cisterna entre a máxima e a mí-

nima 19° e 21°. Depois de observados os traçados de temperaturas feitos pelos termógrafos, estabelecemos uma relação entre os três climas: clima do Terraço da Ilha, clima do ar junto á cisterna, clima da água da cisterna, que foi a seguinte:

Enquanto a temperatura do ar no Terraço da Ilha sobe de 8° a temperatura do ar da cisterna sobe apenas de 4°C e as águas da mesma cisterna sobem de 1° C.; em regra geral ás águas mantinham até meio dia a temperatura mínima ocorrida durante a noite. Estas interrelações apresentamos nos gráficos da figura 4.

A seguir damos alguns dados obtidos representados em máximas e mínimas diárias expressas em graus centígrados.

TABELA

DATA	Terraço da Ilha do Pinheiro	Ar da cisterna	Água da cisterna do Pinheiro
Mãio:			
24	20 — 34	20 — 25	20 — 20,4
25	21 — 34	18 — 24	19,2 — 20,7
26	20 — 38	19 — 24	19,3 — 21
27	— 36	19 — 24	
28		18 — 25	
29	19 — 39	19 — 39	19 — 21
30	19 — 39	20 — 28	19 — 21,5
31	20 — 39	21 — 28	20 — 21.5
Junho:			
1	19 — 39	21 — 28	19 — 21.2
2	19 —	21 — 28	20 — 21,3
3	19 —		
4	19		19 — 19,5
5		18 — 20	19 — 19,2
6		17 — 21	17,8 — 19,1
7		16 — 21	18 — 19,4
8	19 — 39	19 — 29	19 — 19,7
19	21 — 34		19 — 20.7
10	17 — 20		19 — 19,8
11	18 — 20		19 — 19,9
12	17 — 33		19 — 20
13	15 — 34		18 — 20,7
14	20 — 22		19,2 — 19,5
15	20 — 31		19
16	21 — 35		19
17	21 — 23		19
18	19 — 22		19
19	13 — 24	14 — 20	18 — 19
20	12 — 30	12 — 20	18 — 20
21	17 — 32	17 — 21	18 — 20
22	14 — 33	15 — 21	18 — 20,5
23	15 — 36	15 — 22	18 — 20,5
24	15 — 37	15 — 24	18 — 21
25	17 — 38	16 — 26	18 — 21
26	20 — 40		— 21,5
27	17 — 37		— 21
28	19 — 37		— 21
19	20 — 33		— 20,6
30	18 — 27		— 20

DATA	Terraço da Ilha do Pinheiro	Ar da cisterna	Água da cisterna do Pinheiro
Julho:			
1	18 — 37		
2	20 — 34		
3	18 — 30		
4	17 — 35	18 — 22	
5	16 — 36	16 — 24	18 — 21
6	18 — 25	18 — 20	19 — 19.5
7	17 — 36	17 — 22	18 — 21
8	16 — 33	16 — 22	18 — 20
19	14 — 33	15 — 22	18 — 20
10	16 — 35		18 — 21
11	16 — 36		18 — 21
12	17 — 36		18 — 21
13	18 — 38	19 — 27	18 — 21
14	19 — 38	18 — 19	19 — 21
15	18 — 22	19 — 22	18 — 21
16	17 — 26	19 — 23	18 — 19
17		17 — 24	18 — 19
18		16 — 23	18 —
19		16 —	18 —
20	16 — 36	17 — 24	18 — 21
21	18 — 33	19 — 25	18 — 20
22	18 — 39	19 — 28	18 — 21
23	18 — 26	19 — 24	18 — 19
24	18 — 28	18 — 23	18 — 19
25	20 — 36	20 — 27	19 — 21
26	20 —		19 — 19
27	18 — 24	18 — 22	18 — 21
28	15 — 36	16 — 24	18 — 20
29	15 — 35	16 — 25	18 — 21
30	16 — 38	17 — 27	18 — 20
31	16 — 38	17 — 27	18 — 20
Agosto			
1	16 — 37	18 — 27	
2	19 — 39	19 — 30	
3	19 — 39	19 — 26	19,2 — 21,2
4	18 — 32	21 — 24	19,2 — 20,5
5	20 — 33	21 — 25	19.4 — 20,4
6	20 — 35	21 — 25	19.2 — 20.5
7	20 — 34	20 — 26	19.1 — 20.7
8	18 — 38	19 — 24	18.5 — 20.2
9	17 — 34	16 — 24	16 — 20.7
10	18 — 36	18 — 27	18 — 21
11	19 — 34	19 — 25.4	19 — 20.6
12	20 — 37	20 — 26	29 — 21
13	20 — 37	20 — 26	20 — 21
14	20 — 38	20 — 38	20 — 21,3
16	18 — 38		
17	20 — 38	20 — 30	19 — 21.4
18		21 — 27	19.1 — 21,2
19		20 — 20	19,0 — 19,2
20		20 — 21	19 — 19,2
23	18 — 37		18 — 20,7
24	18 — 39		18 — 21,6

INSOLAÇÃO — poderemos observando pela posição da cisterna (como no esboço da fig. 2) com facilidade compreender que a insolação só é significativa e direta de 10 horas até ás 14 horas em Maio, quando o nível das águas está em 1,30 m. limnográficos. Quando a cisterna esteve vazia em 1938 o sol só caía no fundo de 10 horas e meia até 13 horas.

TERMOREGULAÇÃO — O lençol de água doce que alimenta a cisterna passa por baixo da Enseada de Inhauma, esta serve de enorme termoregulador. Para quem conhece o clima do Rio de Janeiro não é extranho observar dias em que a temperatura cai muito, principalmente no inverno, em Junho, em que chega a 15°C e mesmo a 14°, mas esta temperatura do ar é muito passageira geralmente ocorre sòmente durante a madrugada, já ao levantar do sol o termômetro sobe muito e continua subindo até cêrca de meio-dia, de modo que no maior tempo de sua existência, ás águas da cisterna ficam mesmo entre 19° e 21° C.

CÔR DAS ÁGUAS

Foi tomada a côr aparente das águas, olhando-se para a cisterna, com uma placa de porcelana por baixo para tirar o efeito castanho escuro do fundo; e a côr chamada — côr verdadeira, pelo Standard Methods for Water Analisis, também foi verificada no laboratório.

Um dos principais fundamentos das observações limnológicas é a côr aparente das águas. Nesta cisterna varia dentro do grupo de "verde bistre C.U.C. n.° 261, 262, 263, 264" até ao "Ultramar amarelo C.U.C. 265". Em certas ocasiões a côr muda totalmente de tonalidade, transformando-se gradualmente, passando ao grupo dos verde maçã, mas muito claros, isto é, até "C.U.C. 270". Uma terceira tonalidade, resultante do progressivo metabolismo que surge em outras ocasiões, é a do grupo "Verde Lymphaceus" ficando as águas "C.U.C. 305", ás vêzes mais carregado as vêzes mais diluído.

TRANSPARÊNCIA — Com efeito, nunca a água é totalmente transparente — nunca se vê o fundo da cisterna, e nem mesmo um prato branco colocado no fundo. A transparência para o disco de Sechi é mínima de 0,60 m. e máxima de 2 m., necessàriamente tomadas em dias claros ao meio-dia. Esta falta de transparência corre por conta do plancton e de partículas grosseiras de detritos em suspensão, pois as águas em laboratório não apresentam turvação, tais foram os resultados das análises: Turvação em p.pm. de Sílica = 0,0, em todas amostras analisadas.

A côr aparente da água na cisterna difere da côr verdadeira da água filtrada em laboratório, que variou entre 10 e 15 mg.l. em Platina.

Isto vem mostrar que o que dá a côr aparente é o plancton que varia, que dá por intermedio da côr de sua clorofila o aspecto Verde bistre, verde maçã, verde linfaceo, etc.

CHUVAS

Durante o período em que estudamos estas águas as precipitações foram:

desde 15 de Maio de 1952 até 5 de Junho: nenhuma chuva.

Os dias chuvosos foram:

JUNHO 1952

6	39	mm. de precipitação. (no terraço da Ilha)
10	10	mm.
11	14	mm.
12	7	mm.
16	6	mm.
17	18	mm.
18	28	mm.
19	6	mm.
21	5	mm.
30	2,0	mm.

JULHO

2	1	mm.
3	2	mm.
6	6	mm.
8	0,3	mm.
26	13	mm.
27	6	mm.

AGÔSTO

8	7	mm.
19	30	mm.
20	20	mm.

SETEMBRO

5	2	mm.
6	8	mm.
7	2	mm.
9	29	mm.
14	24	mm.
18	21	mm.
19	5	mm.
20	20	mm.

OUTUBRO

10	3	mm.

(de 12 de Outubro até 4 de Novembro: 63 mm; em 9 de Novembro: 6 mm. quando observações foram encerradas).

HIDROQUÍMICA

Resultados das análises executadas pelo Sr. Arnaldo Miranda, da Estação de Hidrobiologia, sob a orientação do Dr. Rubem Nascimento da Divisão de Química do Instituto Oswaldo Cruz.

Água da cisterna em longo período de sêcas, antes das chuvas, em 23 de Maio de 1952:

Côr mg.l. em platina	10,0
pH	6,9
Substâncias sólidas dissolvidas g./l.	5,243
Resíduo fixo total g./l.	1,046
Cloretos gramas por litro	2,414
Cálcio mg.l.	320,0
Magnésio em mg.l.	240,0
Fosfatos (Orto), mg.l.	0,15
Nitratos mg.l. de N	0,128
Nitritos mg.l. de N	0,700
Oxigênio consumido em meio alcalino, mg.l.	1,0
Alcalinidade a fenoftaleína equiv. CaCO3 mg.l.	13,0
Alcalinidade ao Indicador Mixto, equivalente a CaCO3, mg.l.	318,0
Amônia, mg.l.	0,08
Ferro mg.l.	5,0
Sulfatos, mg.l.	87,954
Sílica, mg.l.	20,0
Densidade a 20°/20°	1,0078
Densidade a 20°/4°	1,0060
Acidez total equivalente a CaCO3 mg.l.	0,0
Turvação p.p.m. em Sílica	0,0
Dureza total	1.800,0
Dureza cálcica	800,0
Dureza magnésica	1.000,0

Água da cisterna após as chuvas desde 6 de Junho, na cota 0,80 da régua limnográfica caindo um total de precipitação de 124 mm. Amostra colhida em 19 de Junho de 1952.

Côr mg.l. em platina	15,0
pH	7,6
Substâncias sólidas dissolvidas, g.l.	3,502
Resíduo fixo total g./l.	1,889
Cloretos g./l.	1,775
Cálcio mg.l.	160,0
Magnésio mg.l.	192,0
Fosfatos (Orto) mg.l.	0,30
Nitratos mg.l. de N	0,825

Nitritos mg.l. de N	0,030
Oxigênio consumido em meio alcalina, mg.l.	5,2
Alcalinidade a fenolfaleína equiv. CaCO3 mg.l.	15,0
Alcalinidade ao Indicador Mixto, equivalente a CaCO3 mg.l.	245,0
Amônia mg.l.	0,56
Ferro mg.l.	5,0
Sulfatos mg.l.	156,346
Sílica mg.l.	22,0
Densidade a 20°/20°	1,0055
Densidade a 20°/4°	1,0037
Acidez total equivalente a CaCO3	0,0
Turvação p.p.m. em sílica	0,0
Dureza total	1.200,00
Dureza cálcica	400,00
Dureza magnésica	800,00

ANÁLISE

9 de Agôsto de 1952; depois de uma dedetisação intensa na parede da cisterna, e no mato ao redor.

Côr mg.l. de platina	15,
pH	7,2
Substâncias sólidas dissolvidas g.l.	4,785
Resíduo fixo total g.l.	1,815
Cloretos, em Clg.l.	2,206
Cálcio Ca, mg.l.	320,0
Magnésio mg.l.	240,0
Fosfato Orto, mg.l.	0,30
Nitratos mg.l. de N	0,100
Nitritos mg.l. de N	0,004
Oxigênio consumido em meio alcalina, mg.l.	4,0
Alcalinidade a fenolfateína em CaCO3 mg.l.	0,0
Amônia mg.l.	1,1
Alcalinidade ao Indicador mixto, em CaCO3 mg.l.	277,0
Ferro mg.l.	5,0
Sulfatos mg.l.	122,146
Sílica mg.l.	22,0
Densidade 20°/20°	1,0060
Densidade 20°/4°	1,0042
Oxigênio dissolvido mg.l.	0,916
Acidez total em CaCO3 mg.l.	12,0
Dureza total	1.800,0
Dureza cálcica	800,0
Dureza magnésica	1.000,0

SISTEMÁTICA

Lista da flora e fauna:

O material biológico relacionado com as águas da cisterna é o seguinte:

FLORA

DIVISÃO *SCHIZOPHYTA*

CLASSE *SCHIZOMYCETES*

Ordem *BACTERIALES*

Família *Coccaceae*

Streptococcus sp.
Sarcina sp.
Micrococcus sp.

Família *Spirillaceae*

Spirilum sp.

Ordem *Thiobacteriales*

CLASSE *SCHIZOPHYCEAE*

Família *OSCILLATORIACEAE*

Oscillatoria tenuis Ag.
Oscillatoria sp.
Phormidium sp.

DIVISÃO *BACCILARIOPHYTAE*

Ordem *Pennales*

NAVICULOIDEAE

Stauroneis anceps Ehrenberg.
Stauroneis anceps var. *linearis* Kuetzing.
Stauroneis salina W. Sm:
Genero *Navicula* Bory

Navicula sp.

Genero *Cymbella* Agardh

Cymbella sp.

Gomphonema brasiliensis Schmidt
Comphonema acuminatum Ehrenberg

MONORAPHIDAE

Cocconeis forcipata Schmidt
Genero *Fragillaria* Lyngbe

Fragillaria sp.

NITZSCHIOIDEAE

Nitzschia vitrea Norman

RAPHIOIDEAE

Eunotia aequalis Schmidt
Raphoneis sp.

ARAPHIDAE

Synedra ulna (Nitzsch) Ehrenberg.

DIVISÃO *CHLOROPHYCEAE*

Ordem *Ulotrichales*

Ulotrix sp.

Ordem *Siphonales*

Genero *Vaucheria* De Candolle

Vaucheria sp.

HETEROCONTAE

Tribonema sp.

DIVISÃO *EMBRIOPHYTA SIPHONOGAMA*

Familia *HYDROCHARITACEAE*

Anacharis canadensis (Mich.) Planch.
= *Elodea canadensis*

Familia *LEMNACEAE*

Lemna minor L.

FAUNA

PROTOZOA

CILIOPHORA

Ordem *Holotrichida*

familia *Holophriidae*

Genero *Prorodron*

Prorodron sp.

Familia *Tracheliidae*

Genero *Amphileptus* Ehrenberg

Amphileptus sp.

Familia *Paramecidae*

Genero *Paramecium* Hill

Paramecium sp.

Ordem *Hypotrichida*

Familia *Oxytrichidae*

Stylonichia pustulata Ehrenberg
Genero *Pleurotricha* Stein

Pleurotricha sp.

Familia *Euplotidae*

Euplotes charon Mueller

Ordem *Peritrichida*

Familia *Vorticellidae*

Vorticella sp.

Phylum *ROTATORIA*

Ordem *Notomatida*

Genero *Diglena* Ehrenberg

Diglena sp.

Genero *Monostyla* Ehrenberg

Monostyla sp.

Familia *Gastropodidae*
genero *Brachionus* Ehrenberg

CLASSE *CRUSTACEA*

Subclasse *OSTRACODA*

Spirocypris sp.

Subclasse *COPEPODA*

Eritrodiaptomus sp.

CLASSE *INSECTA*

Ordem *DIPTERA*

Anopheles tarsimaculatus, mosquito da malária
Chironomus sp.

Phylum *MOLLUSCA*

Classe *GASTROPODA*

Lymnaea sp., molusco "grão de arroz".

Superclasse *PISCES*

Lebistes reticulatus, peixinho de aquário.

Classe *AMPHIBIA*

Hyla sp., rã

Classe *AVES*

Ordem *FALCONIFORMES*

Coragypes atartus foetens, urubú.

Classe *MAMMALIA*

subordem *SUIFORMES*

Sus scrofa domesticus, porco.

O mosquito *Anopheles tarsimaculatus* não existe, nem nunca existiu nas águas da cisterna, mas em umas poças salobras muito próximas a esta cisterna, por isso é que houve a dedetisação, assim havendo seja como fôr, uma influência indireta.

POSIÇÃO LIMNOLÓGICA

Limnològicamente as cisternas se dividem em 2 grupos: naturais (as que provém de antigos lagos, as que transformar-se-ão em futuros lagos, as que ficam sempre cisternas e podem ter várias origens) e

aquelas que são artificiais. Nas artificiais há umas que tem estagnação e desequilíbrio influenciado ou não pelas chuvas. A "Cisterna do Pinheiro" é do grupo das de amplitude influenciada pelas chuvas, assim como a composição química. Quanto a temperatura ela é do grupo das que são influenciadas pela temperatura do ar, com temperatura relativamente constante, devido a regulação de grande lençol de água subterrâneo que fica por baixo de uma grande massa de água do mar, cuja temperatura não cai abaixo de 18° C. É do grupo das cisternas de água permanente, totalmente abertas, recebendo a iluminação do sol.

É uma cisterna do tipo das cavadas em litoral e em "floresta" de águas relativamente claras, com turvações periòdicas por épocas das chuvas. Não há nenhuma cisterna no clima sub-tropical descrita com todos os dados e informes necessàriamente e suficientemente técnicos, exigidos pelas ciências hidrobiológicas.

Há interêsse em se conhecer o grau de estabilidade do povoamento de uma água, e é mais fácil em uma massa pouco volumosa como a de uma cisterna. Neste problema os hidrobiologistas consideram dois aspectos: a persistência das mesmas espécies nas águas e a persistência das relações numéricas entre as espécies constituindo uma biocenose. São pois dois aspectos: a eclipse de uma espécie e o aparecimento de uma outra espécie, resultado o deslocamento da expressão numérica da estrutura da biocenose. Para constatação da aparição ou do desaparecimento de uma espécie há necessidade de controles minuciosos. Os números que traduzem a estrutura de uma biocenose, traduzem uma condição de equilíbrio entre os constituintes da sociedade e seu conjunto em relação ao meio. Por isto é que tais constatações numéricas tomam um certo fundamento. E mesmo notemos que pode romper-se o equilíbrio de uma biocenose, sem que haja mudança na parte qualitativa das espécies, sem que haja nenhuma alteração na "Lista da Flora e Fauna".

Veremos primeiramente as associações de carácter permanente.

ASSOCIAÇÕES PERMANENTES — Os sêres permanentes se dispõem na seguinte zonação flutuante: a cisterna apresenta a superfície de suas águas coberta por uma camada de plantinhas do gênero *Lemna*, cujas folhinhas muito verdes formam um tapete, quasi completamente fechado e impedindo em muito a penetração da luz (fig. 3). Esta planta oferece associações de caráter aéreo e epifítico: certos insetos e aracnideos que vivem por cima das folhinhas. Nas raízes das Lemna há uma associação que possìvelmente tenha exigências subaéreas, onde vivem as *Vorticellidae*, pois quando às *Lemna* são transportadas para o laboratório, para debaixo d'água, no aquário, imediatamente desaparecem as *Vorticella* e os *Rotiferos;* mas não é sòmente epifítica, pois que os *Vorticellidae* vivem neste nível sub-aéreo, fixos a suportes de pedaços de madeira, de galhos, de fôlhas sêcas flutuantes. Talvez êstes animais necessitem uma quota maior de oxigênio, que existe nas proximidades da película superficial. Também em caráter

Figura 5 — Ao lado da cisterna do Pinheiro: A draga trazendo as fôlhas pôdres do fundo, a gaiola em que está o registrador para temperatura, pressão e humidade do ar junto a cisterna. Vê-se o capim palha, e ramos de um pé de jamelão.

Figura 6 — A cisterna tem uma grade rústica, feita para os porcos e as preás não caírem dentro, está em pleno mato.

Figura 7 — O balde de Friedinger, para contagens, nos furos arredondados êle esvazia exatamente em 10 litros.

Figura 8 — A draga de Pertersen, fabricada por HANS FRIEDINGER, LUZERN, trazendo uma amostra do fundo: fôlhas de jamelão e mangueira, detritos de vegetais, alguns tijolos se desfazendo.

Fig. 9

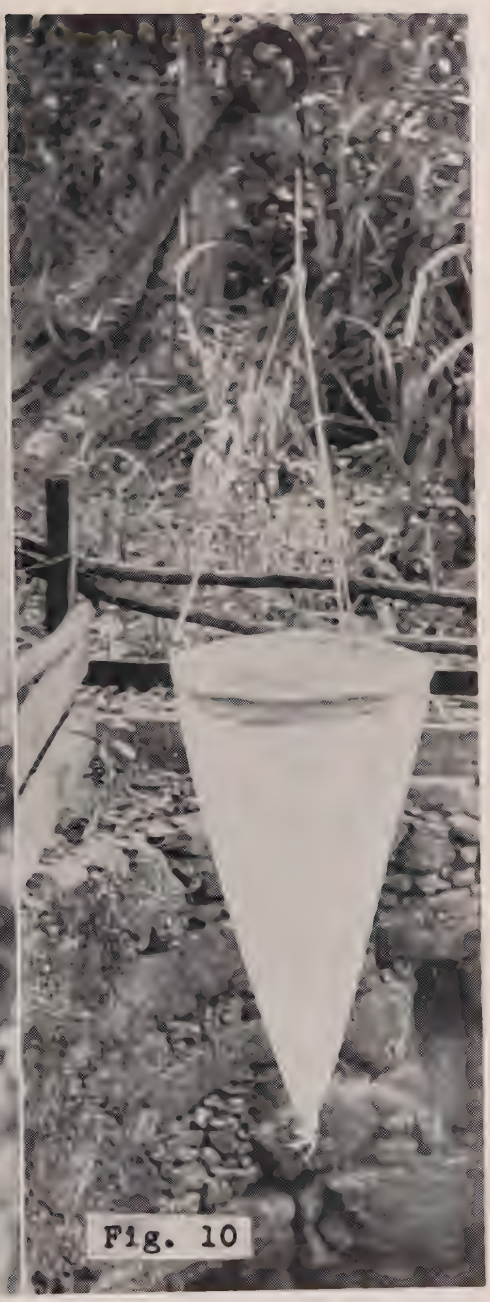


Fig. 10

Figura 9 — o Sondador de Friedinger descendo: êle atravessa a camada de fôlhas e traz o material de argila preta do fundo. Em baixo: a "draga de copo" (a).

Figura 10 — uma rêde de Plancton qualitativa, ao descer.

Fig. 11

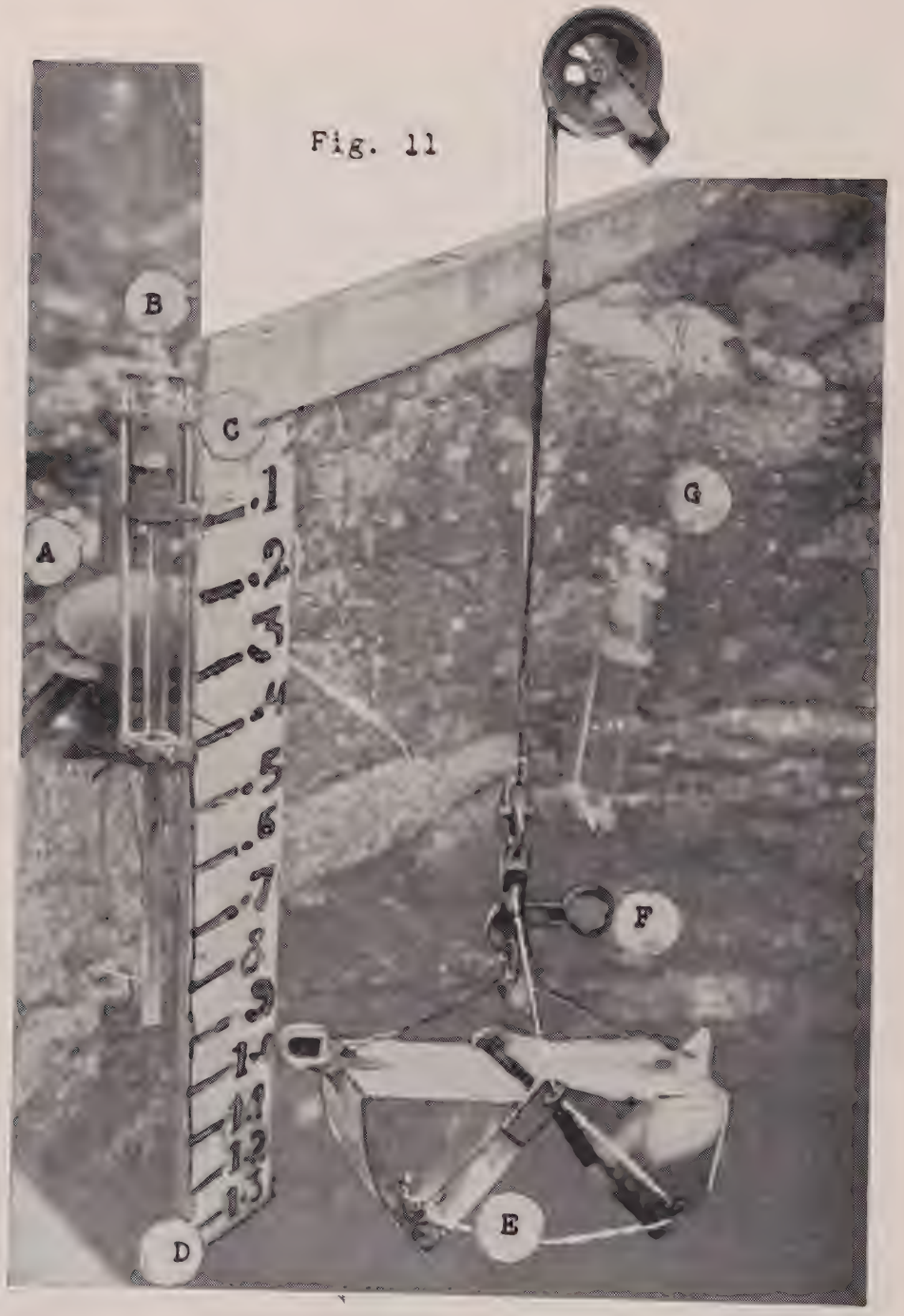


Figura 11 — A — uma peneira, do Tipo de "peneira de Allen" para estudo do fundo. B — sondador de fundo, da parte mais macia, de vidro, de Friedinger. C — a cota ZERO da soleira. ZERO limnográfico da cisterna D — vê-se que no momento em que foi tirada esta fotografia a água estava a 1,33 m. Reparar que para contagem de altura d'água pelo nivel o volume de água sobe quando a altura desce em relação a cota ZERO da soleira. E — a draga de Petersen aberta, com o seu disparador F. Em G: um sondador de vidro descendo.

permanente existe um pouco mais para o fundo, num nível de 20 até 60 centímetros abaixo da película superficial, uma zona em que a espécie predominante é a elódea *Anacharis canadensis*. Estas elódeas dão um total de 8 litros, ou seja para facilitar, 250 plantinhas de ½ metro de comprimento cada uma, estão em fase de equilíbrio, sua população está estabilizada, não há aumento nem diminuição do número de espécimes. Entre as elódeas é que habita o planctor mais rico, mas a relação numérica entre os vários planctontes, assim como a presença e ausência de alguns dêles, não tem caráter de permanência: ora predomina um *copepodaplancton,* ora um *ostracodaplancton,* havendo uma série de elementos, em menor número, como sejam: fitoflagelados, protozoários *Thurícola,* ciliados, coanoflagelados, rotífera. São muito comuns as vortícelas que se desprendem do suporte e nadam livremente, há raros *Actinophrys sol,* muitas diatomáceas *Naviculáceae* em discos flutuantes de massas gelosiformes muitos *Gastrotrichas* e rotíferos *Brachionus, Monostyla,* alguns filamentos de heterocontas, de oscilatórias, de *Phormidium* entre detritos vegetais numerosíssimos.

O plancton é mais abundante na zona superior, não é sòmente a mais arejada, assim como a mais doce, pois que ás aguas do fundo são pouco mais salobras.

ASSOCIAÇÃO EPILITICA PERMANENTE

A ecologia dos grupamentos constitue necessàriamente uma base de classificação: entre outros há um grupamento na parede vertical da cisterna e outro no fundo. A parede da cisterna é de pedra e nela crecem vários sêres microscópicos principalmente as diatomáceas do gênero *Gomphonema*. Nestas paredes é que andam os moluscos "grãozinho de arroz" *Lymnaea* sp., comendo os sêres que aí crescem, limpando a parede. Estas *Lymnaea* também andam nos ramos das *Elodea,* é raro apanhar uma viva andando no fundo da cisterna. No laboratório as *Lymnaea* crescem mais abundantemente quando as águas tem 200 mg. 1. de nitrato de amônio (meio IV). No laboratório elas andam no fundo do aquário.

Sempre que se pesquisa a parede da cisterna, sempre se encontra esta associação.

ASSOCIAÇÕES TEMPORÁRIAS: Primeira fase: Consideremos a cisterna no período de sêca, com águas de pH = 6,7 a 7,0, côr no grupo verde linfáceo, que é o das águas pardas por substâncias húmicas, pela tinta castanha que sai das folhas em decomposição, com transparência de 1 metro pelo repouso prolongado. Impressionante era que a população platônica de copepodos vivia exuberantemente.

Havia 2,414 mg.1. de cloro, ou seja expresso em salinidade S = 3,5 por mil. O cálcio estava em politipo: 320; o mesmo acontecia com o magnésio: 240; sais que provinham de influência marítima, de dureza magnésica maior que a calcica. Os fosfatos estavam em mesotipo; os nitratos em oligo-tipo com 0,128 mg. 1. enquanto que os ni-

tritos eram apenas apreciáveis. Oxigênio consumido em meio alcalino em oligotipo, o ferro e os sulfatos em politipo.

A vista destes dados, as águas da cisterna encontravam-se nesta fase em regime oligohalina, correspondente a 10% de água do mar em água doce, com sulfatos em politipo.

Se prescutássemos suficientemente esta questão, teríamos de ver com os elementos que existem na água do mar em pequenas doses como os iodetos, molibdenio, zinco, cobre, manganez pois êstes tem grande influência (haja visto a "solução AZ" para cultivo de algas que leva iodetos, molibdenio, zinco, cobre, manganez, boro, alumínio, estroncio, níckel, cobalto, titânio, brometos, etc...) É muito diferente 10% de água do mar total, de apenas alguns sais marinhos em mesma proporção. Há de se reconhecer que os cloretos não são geralmente desnecessários e totalmente inúteis mesmo para a nutrição de certas algas de água doce, quanto mais nas cisternas litorâneas em que as espécies são oligohalobias.

A concordância entre os fenômenos físicos, químicos, com a predominância dos copepodos conduz-nos a conceber a existência desta "fase de copepodaplancton" que permaneceu até ao dia 20 de Maio de 1952.

Desequilíbrio — Os limites entre a fase copepodaplancton e a fase de desequilíbrio são apreciáveis e bruscos. O nível das águas baixou até 1,41 m. limnográficos, os sulfatos chegaram até 260 mg.1.; êste teor está demonstrado ser a intensidade ótima para o crescimento sobretudo de certas tiobactérias que produzem gaz sulfídrico por uso dos sulfatos. O teor de sulfatos caiu para 87 mg.1. em 23 de Maio, 5 dias após o início do desequilíbrio. Êstes fatos concorrem para ilustrar o porque destas águas de 18 a 20 de maio, passaram a não prestar ao desenvolvimento dos copépodos e começou a mortandade de plancton nesta ocasião. No fundo da cisterna o cheiro sulfidrico era intenso e observou-se o seguinte *bentos*: argila de côr preta misturada com detritos, quasi pretos, de decomposição de numerosos vegetais, muitas partículas de carvão, havia sòmente 3 ostracodos vivos, uma ou outra diatomáceas *Fragillaria, Navicula, Gomphonema* viva, e o resto do material bentônico todo morto: *ostracoda, copepoda* e *Lymnaea*. De 21 a 24 de Maio o cheiro sulfídrico já ía desaparecendo, e na amostra de fundo já havia em cada "dragagem de copo" os seguintes elementos vivos: *Fragillaria* — 4; *Navícula* — 2; *Achnanthes* — 1; ostracodos *Spirocypris* — 3; Todas as *Lymnaea* estavam mortas. Nesta ocasião predominava com muita vitalidade no *bentos* esquizofíceas *Phormidium* sp. e *Oscillatoria* sp. A côr aparente da água nesta fase era amarelo esverdeado "*Lymphaceus* côr n.º C.U.C. 305", vista por cima do disco de porcelana de 1 pé de diâmetro. A transparência com êste disco era de 1 metro. Esta fase de desequilíbrio foi de 17 a 29 de Maio, já no fim da fase apareciam em cada 20 litros de plancton: 5 ostracodo, 1 *Lymnea* e 1 copepodo vivos. Já no fundo aparecem os protozoários retráteis *Vaginícola* sp. Notemos que também houve alterações físicas, pois o poço estava a 1,41 m., desceu de 7 centímetros o seu nível. Re-

sumindo: esta fase é a de um desequilíbrio por gaz sulfídrico em um regime oligohalino a 10% de água de mar, com sulfatos em politipo: mortandade de copepodos e de ostracodos.

OUTRA FASE: Os tracodaplancton — uma outra fase do ciclo hidrobiológico da cisterna do Pinheiro é a "fase de ostracodaplancton", que vem com dominância dos ostracodos do gênero *Spirocypris* (veja o diagrama da figura 12). Quando êstes ostracoda prevaleceram houve: 1.º) uma grande chuva que alterou a côr das águas, estas passaram ao grupo" verde maçã" cujas cores de verde puro não apresentam vestígios de serem tingidas por húmus castanho. 2.º) um aumento de salinidade após a primeira chuva. 3.º) desaparecimento do gaz sulfídrico. 4.º) clorinidade compreendida entre 2,5 e 2,0 g. de cloro por mil. Quando a clorinidade caiu para 1,9 os ostracoda morreram em massa, e as águas mudaram de tonalidade restituindo os antigos "verdes linfáceos" tingidos pelos castanhos das fôlhas em decomposição.

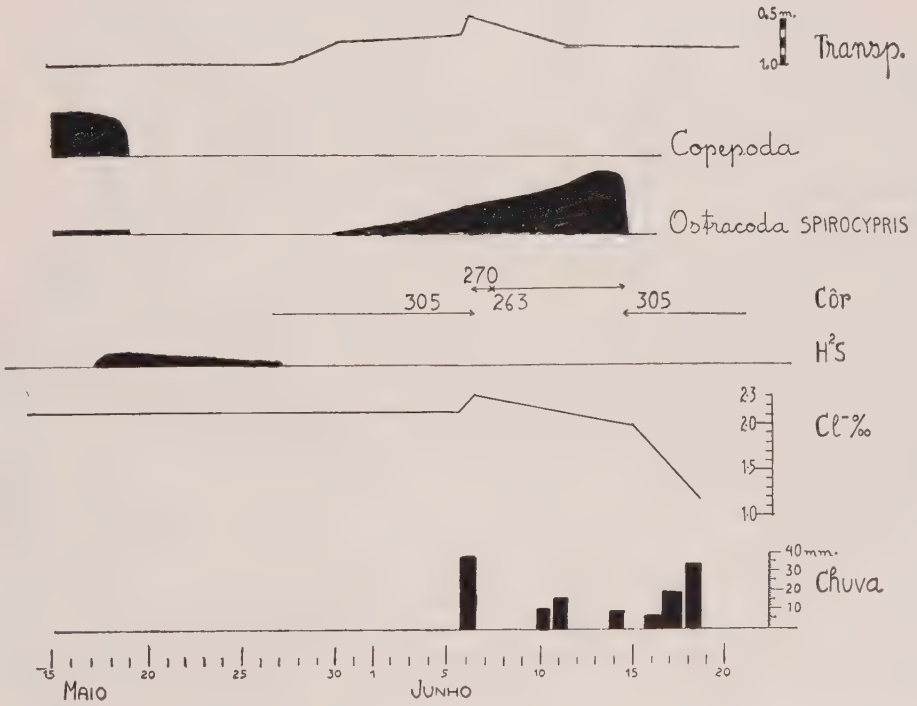


Figura 12 — Ciclo hidrobiológico.

Quando a coloração entrou no grupo "verde maçã" a transparência caiu muito, passou de 1,0 m. que era para 0,5; pois a população enorme de fitoplancton que ali evoluiu era verde, e foi o "pasto" alimentador dos ostracodos. Houve um fenômeno paradoxal: após numerosos dias de sêca caiu uma grande chuva em 6 de Junho — as

águas da cisterna aumentaram de salinidade, em vez de abaixar: de 2,1 subiu para 2,3 por mil. O que deverá ter sucedido foi — a primeira chuva lavou todas as terras contìnuadamente empapadas de água do mar, cuja evaporação dava origem a algum sal sêco espalhado pelo manguesal; na primeira chuva êste sal foi ao lençol subterrâneo que banhava a cisterna. Quando as chuvas foram tantas que já haviam carregado todo o sal, passaram a diluir, e já em 14 de Junho havia mortandade de ostracodos pois a clorinidade baixara a 1,9, e mais 4 dias depois com mais 4 chuvas caíra a 1,1 por mil, meio imcompatível com os ostracodos *Spirocypris* desta cisterna, cuja mortandade não foi causada por fenômenos sulfídricos (não houve alteração no metabolismo dos sulfatos, cujas doses eram proporcionais ás diluições) mas houve fenômenos de hipotonia.

FUNDO DA CISTERNA

O fundo da cisterna é pois de origem heterogênea; inorgânicamente é formado por terra de barreira, de origem geológica terciária, que é a do próprio terreno em que foi cavada a cisterna. De origem extranha temos: inorgânicamente argila trazida por chuvas, pedaços de tijolos e de reboco que desabaram das paredes da cisterna e que já estão em plena desagregação dando areia, terra, e cal; matéria orgânica tudo o que traz a chuva — pedaços de árvores, fôlhas, capim, fôlhas de jamelão e de mangueira que são as árvores que ficam sombreando a cisterna. De origem endogenética, proviniente da própria biocenose da água — detritos das plantas aquáticas: *Anacharis canadensis* e *Lemna minor* e dos animais microscópicos e macroscópicos — cadáveres de peixinhos, de rãs, de moluscos *Lymnaea,* de aves como urubús, que estão em decomposição desde 1938 até 1952. Êste material acumulado forma uma massa mole, pastosa, castanha quasi negra, de um tipo de Dy, mas ainda sem um nome na classificação limnológica dos solos sub-aquáticos. Naturalmente terá provisoriamente nome primeiramente descrito na literatura hidrobiológica: fundo de tipo da cisterna do Pinheiro. Futuros dados de estudos do solo ajuntarão a estes estudos de população e de aguas para que se possa entrar nas "Chaves de Classificação dos Bentos" das limnologias classicas.

A associação epitmênica que se desenvolve no fundo recobrindo os sedimentos é constituída por diatomáceas que trataremos em breve.

A figura 8 mostra a draga de Petersen trazendo do fundo da cisterna uma quantidade de fôlhas mortas e já em decomposição. Atualmente em 1952, o fundo de fôlhas acamadas mede 0,40 m.

DIATOMÁCEAS DO FUNDO

As diatomáceas do Rio de Janeiro foram descritas em 1851 por Ehrenberg, e também por Zellers em 1867-1877 no "Algae brasiliensis" partícula XXII. A obra mais extensa, a de Zimmerman de 1914-1919, contém uma lista de muitas espécies do Rio de Janeiro. Em 1940 e 1941

PATRICK descreve várias espécies novas de diatomáceas brasileiras. Embora não podendo fazer a especialidade de diatomista temos necessidade sempre de estar lidando com estas algas, pois estão presentes permanentemente em quasi todos os corpos de águas. Para que não venha futuramente haver alguma dúvida quanto a determinação do nosso material, vamos expôr em forma de uma chave simples como foram tais plantas determinadas com característicos específicos: Diatomáceas raphideas, de valvas dissemelhantes, cuneiformes (Gomphonemadas), com uma valva naviculoide, assimétrica, com uma das extremidades mais estreita que a outra e cuneiforme (nunca com a face de sutura curva .... gênero *GOMPHONEMA* Ag. (Grupo *Assymétrica* — os dois lados das valvas não são semelhantes).

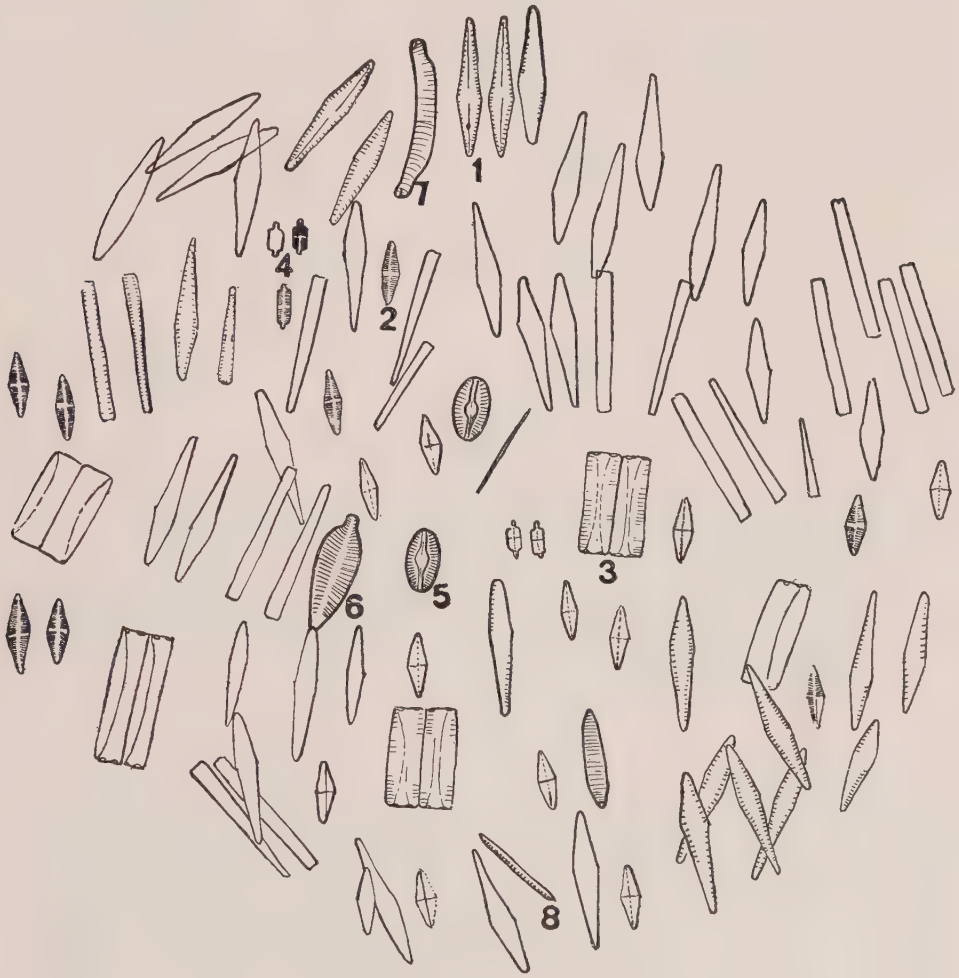


Figura 13 — fórmula diatomística, estão desenhadas 100 diatomáceas nas suas respectivas proporções.

"Estrias medianas não são alternativamente longas e curtas, mas são estrias iguais. Não há área central hialina. Não há figura em cruz, estauriforme, Valva não lanceolorostrada, extremidade superior não apiculada, a parte mediana não é inchada: 1/ valva cuneiforme e mais ou menos triondulada: *G. montanum;* 2/ valva cuneiforme não triondulada: *GOMPHONEMA BRASILIENSIS* Grun.

No Atlas de Schmidt ha a forma *Demerarae* de 77 por 11 micra, a da nossa cisterna não corresponde a esta forma e além disso tem 40 por 7 micra (fig. 13, n.º 1). Ela deverá ser uma espécie ou variedade nova, mas não estamos em condições de estudá-la. Ela passa a predominar no fundo quando a clorinidade mantém-se a 2 por mil (depois de 29 de Maio) no mesmo habitat dos *Spirocypris,* aos quais servem de alimento. Diatomáceas naviculadas, de valvas semelhantes, divididas simètricamente pela rafe, nódulo mediano ausente, ou quando presente igualmente afastado de ambas as extremidades. Frustulas livres ou unidas em pequeno número. Rafe reto, com 3 nódulos, o do meio transversamente dilatado em cruz, transformado em estauro: gênero *STAURONEIS* Ehrg. Espécies de *Stauroneis* encontradas nas águas da cisterna:

Valvas de bordos não triondulados ..... 1 e 1a
7 ..... valvas de extremidades atenuadas rostradas,

S. anceps Ehr. .....(*)

(*) ..... valvas de lados paralelos, variedade *linearis* Kuetz.

(fig. 13, n.º 4)

1a ..... valvas de extremidades não rostradas, estauro estreito, valva curta ligeiramente lanceolada: *S. salina* W. Sm.

NOTA — a forma típica de *S. salina* tem 50-60 micra por 5 micra, tem 18 estrias em cada 10 micra. Esta espécie aqui da cisterna tem 19 estrias em cada 10 micra, e mede desde 20 por 6 micra, até 28 por 7 micra.

(fig. 13, n.º 2)

Outra diatomácea: fig. 13 n.º 5. Cocconeide de valvas dissemelhantes, uma só das valvas possue o nódulo mediano, valva largamente oval. Valva sem estrias marginais, rafe mediano partindo a valva em duas metades simétricas, valva simples, a superior só é que é pseudo-rafe, a inferior com nódulos: gênero *COCCONEIS*. A espécie vista por nós na cisterna concorda com a figura 30 da Pl. 70 do Atlas de Schmidt: *Cocconeis forcipata* Grev. A variedade que nós encontramos na cisterna tem 13 estrias em cada 10 micra, e o pseudórafe se alarga na região mediana, em vez de se estreitar como na forma típica de *forcipata*.

A diatomácea NITZSCHIA era a que tinha frustula com carenas de grandes pontuações, e opostas diagonalmente ás valvas; valvas não arqueadas nem rostradas, era do grupo *linearis,* cujas valvas não tem sulcos, a carena é um pouco excêntrica, os pontos carenais são um pouco arredondados ou angulosos, um pouco alargada transversamente, face conexiva reta por vêzes estreitada na parte mediana. A espécie com que mais concordou foi a *Nitzchia vitrea* Norman; contudo sua forma não coincidiu totalmente com a forma típica, a nossa diferia no seguinte: tinha 11 pontos carenais, e 21 estrias em cada 10 micra. Chama-la-emos nêste trabalho de *Nitzschia vitrea* identificada para uso ecológico, ou uso limnológico, até que um diatomista sistematista, especialisado neste assunto, a determine após os necessários estudos em culturas puras.

No bentos da cisterna em 29 de Maio entre as fôlhas mortas e no barro do fundo havia a seguinte fórmula diatomística:

1. *Gomphonema brasiliensis* 57%
2. *Stauroneis salina* 20%
3. *Fragillaria* sp. 10%
4. *Stauroneis anceps linearis* 8%
5. *Cocconeis forcipata* 2%
6. *Gomphonema acuminatum* 1%
7. *Eunotia trigibba* 1%
8. *Nitzschia vitrea* ..... menos de 1%

Os números de 1 a 8 indicam a predominância, e indicam o número destas diatomáceas no quadro da figura 13.

O fundo da cisterna quando na sua fase oligohalina é um *GOMPHONEMETUM* que persistiu mesmo após a invasão sulfídrica.

Em 3 de Junho, já em outra fase com bôa produção de *Ostracoda,* ainda havia predominância do GOMPHONEMA, mas a *Stauroneis* cessa como sub-dominante, cedendo o lugar ao *Cocconeis*.

FÓRMULA DIATOMÍSTICA

Gomphonema brasiliensis 62%
Cocconeis forcipata 16%
Fragillaria 5%
Cymbella minium 2%
Stauroneis salina 2%
Stauroneis anceps linearis 5%
Gomphonema acuminatum 5%
Eunotia trigibba 1%
Nitzschia vitrea 1%
indeterminado 1%

LIMNOLOGIA EXPERIMENTAL

Para melhor observação dos sêres das águas da cisterna, fizemos as seguintes experiências, colocamos todo o material: planctonico, bentônico e de película em vazos de 4 litros, de vidro branco, com as diferentes adubagens:

MEIO I

Nitrato de potássio	1 gr. L.
Fosfato dipotássico	200 mg.L.
Cloreto de cálcio	100 mg.L.
Cloreto de ferro	1 mg.L.
Sulfato de magnésio	10 mg.L.
Nitrato de cálcio	100 mg.L.

MEIO II

Água da cisterna adubada com nitrato de potássio a 0,1%

MEIO III

Água da cisterna mais:

Nitrato potássio	1 gr. L.
Fosfato dipotássico	250 mg.L.
Cloreto de cálcio	100 mg.L.
Nitrato de cálcio	100 mg.L.
Cloreto de ferro	1 mg.L.

MEIO IV

Nitrato de amônio	200 mg.L.
Fosfato de potássio	100 mg.L.
Cloreto de cálcio	100 mg.L.
Cloreto de ferro	1 mg.L.
Sulfato de magnésio	100 mg.L.

(assemelhando ao Meio de Benecke, nitro-amoniacal)

MEIO V

Água da cisterna	1/3
água da chuva recolhida em vidro	2/3

pH = 5,3 acertado com ácido nítrico puríssimo.

Fosfato potássico	100 mg.L.
Cloreto de ferro	1 mg.L.

MEIO VI

(meio não cálcico, amoniacal)

Nitrato de amônio	1 gr. L.
Fosfato de potássio	200 mg.L.
Sulfato de magnésio	100 mg.L.

MEIO VII

Água da cisterna	
com Nitrato de amônio	200 mg.L.

(meio nitro-amoniacal.)

MEIO VIII

Nitrato de cálcio	100 mg.L.
Nitrato de potássio	25 mg.L.
Fosfato monopotássico	250 mg.L.
Cloreto de ferro	1 mg.L.
Carbonato de potássio	34 mg.L.
Sulfato de magnésio	25 mg.L.

(assemelhando-se ao meio de Uppens)

MEIO IX

(meio super-cálcio)

Nitrato de potássio	200 mg.L.
Fosfato de potássio	20 mg.L.
Cloreto de cálcio	2 gr. L.
Cloreto de ferro	5 mg.L.
Sulfato de magnésio	10 mg.L.

MEIO X

Água da cisterna em	
Nitrato de sódio	100 mg.L.
Fosfato de sódio	20 mg.L.
Cloreto de ferro	1 mg.L.

(análogo ao meio de Schreiber)

Em todos os meios foram acrescentados os seguintes fatores: Cloridrato de tiamina ..... 1 mg.; Riboflavina ..... 1 mg.; cloridrato de pirodoxina ..... 1 mg.; Nicotinamida ..... 50 mg.; Ácido pantotênico ..... 25 mg.; 0,003%, acetato de potássio ..... 0,0003% acetato de potássio ..... 0,0003% óxido de zinco ..... traços; cloreto de manganez .. traços.

Uma das razões de colocarmos peptona nestes meios de cultura foi haver substâncias orgânicas em dissolução nas águas da cisterna (reparemos que o oxigênio consumido nas várias dosagens estava de 1,0 a 4,0; e no dia 19 de Junho de 1952 a 5,2 mg 1.). O que se pode conceber é que tenha havido o seguinte: as carnes dos vários animais lá se decompuzeram, assim produziram uma pequena quantidade de proteínas, de polipetídeos, de amino-ácidos, de peptonas que era usada em parte para a nutrição das algas e protozoários. Mas cremos que o teor não poderá chegar a 0,2% de peptona (como é o teor ótimo aconselhado por Pringsheim para cultura de algas). O extrato de concentração equivalente ótimo para algas é na porcentagem de 0,05 até 0,5%, assim para ter o teor mínimo seria necessário que a nossa cisterna de 10.000 litros de água, tivesse um extrato de 50 quilos de carnes de animais; como isto ainda não aconteceu, embora tivesse caído uma porca na cisterna que pesava 60 quilos, mas esta não chegou nem mesmo a morrer, porque foi retirada no mesmo dia. Contudo o maior animal que lá caiu e apodreceu foi um urubú que pesava talvez tanto quanto uma galinha, o que daria 0,03% de carne, já razoável quantidade para influir na biocenose da cisterna.

Como êstes meios de cultura foram principalmente enriquecedores de protozoários, daremos uma chave simples, dedicada ao limnologista, para as poucas espécies destas águas oligohalinas.

RECONHECIMENTO DOS PROTOZOÁRIOS DAS ÁGUAS DA CISTERNA DO PINHEIRO

ORDEM *HYPOTRICHIDA* Stein
Com cílios e cirros: família *OXYTRICHIDAE* Kent.
Encontramos desta família o gênero

STYLONICHYA Ehrenberg. Corpo não flexível, ovóide ou reniforme; superfície ventral lisa, dorsal convesa, peristoma largo estreitando até ao meio do corpo, do tipo triangular; cirros: 8 frontais, 5 ventrais, 5 anais.

Para determinação do animal a que referimos nas águas do poço da Ilha do Pinheiro:

1. — Peristoma normal (não do tipo subgen. HISTRIO): subgênero *Stylonichia* ..... 2 (fig. 14, n.º 6):
2. — corpo mais largo anteriormente que posteriormente; posteriormente em quilha ..... *S. mytilus*
corpo ovoide, terminando oviforme, com cistos esféricos .....
..... *S. pustulata*
corpo ovoide terminando elipsoide, com 80 a 100 micra de comprimento, não tendo 3 cerdas longas caudais, mas tendo 5 ou mais de 5 e não muito longas:.

STYLONICHIA SP. .... da cisterna do Pinheiro.

(fig. 14, n.º 6).

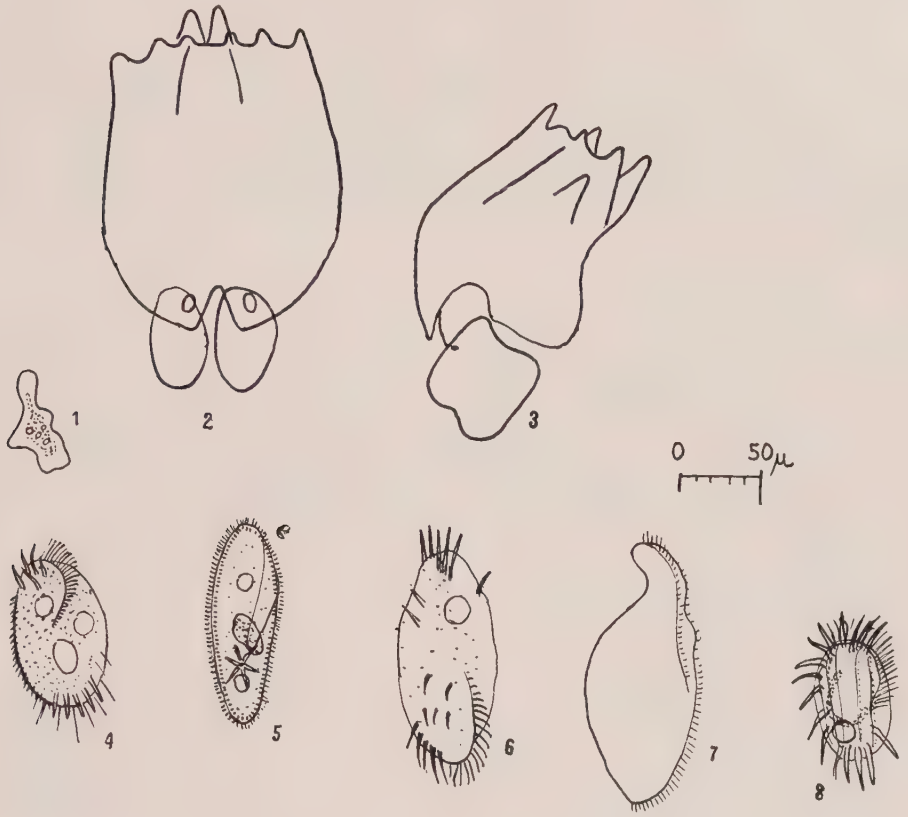


FIGURA 14

n.º 1 — *Amoeba* sp.
n.º 2 — *Brachionus* sp. (rotífero) e n.º 3
Protozoários:
n.º 4 — *Pleurotricha* sp.
n.º 5 — *Paramecium* sp.
n.º 6 — *Stylonichia* sp.
n.º 7 — *Amphileptus* sp.
n.º 8 — *Euplotes charon*

HYPOTRICHIDA sem cílios, sòmente com cirros: cirros frontais, ventrais, anais e marginais: família *EUPLOTIDAE* Claus. Corpo ovoide inflexível, superfície ventral lisa, dorsal convexa, com listas longitudinais, peristoma largamente triangular, ou em forma de harpa. Cirros 9 ou mais fronto-ventrais, 5 anais, 4 caudais esparsos. Macro e micronúcleo em faixa. 1 vacúolo contratil. Incolor ou verde por zoochorela: EUPLOTES Ehrb.

Arredondado anteriormente ..... *E. charon* (Mueller) (fig. 14, n.º6)
Em quilha anteriormente ..... *E. patella* (Mueller)

OXYTRICHIDAE:

gênero *PLEUROTRICHA* Stein — corpo oblongo com extremidades arredondadas. As fileiras de cílios marginais são contínuas, 5 a 8 cirros frontais, ventrais, ventrais arranjados em 2 ou mais carreiras irregulares, as carreiras internas tem menos cirros que as externas, cirros anais 5 ou 6, 2 sendo mais próximos da margem posterior. Movimento rápido quasi pulando, guinando para a direita e para a esquerda.

1 . — corpo em forma de lanceta :.... (+)

1a. — corpo elipsoide 2

2 . — cirros ventrais em forma de gancho .....*P. grandis*
— cirros ventrais comuns .... *PLEUROTRICHA* SP. .... da cisterna da Ilha do Pinheiro. (fig. 14, n.º 4)

HOLOTRICHIDA: fam. *Tracheliidae* Kent; corpo em forma de garrafa, parte anterior com uma proboscida aparentemente, na base da qual está situado o citostoma. 1 ou vários vacúolos contrateis. Um ou dois macronúcleos.

AMPHILEPTUS Ehrenberg. *Amphileptus* sp. ...., da Cisterna do Pinheiro (fig. 14, n.º 7); de 160 micra por 60 micra.

HOLOTRICHIDA fam PARAMECIDAE Grobben

Genero *PARAMECIUM* Em forma de charuto, circulares ou elipsoides em seção transversa. Um macronúcleo 1 ou vários micronúcleos. Peristoma longo e largo. Flexíveis. 2 vacúolos. Sistema irradiante. Movimento irregular, vivo.

Na Ilha do Pinheiro: *PARAMECIUM* SP. ....; de 80 micra de comprimento. (fig. 14, n.º 5)

O surto espontâneo de protozoários, de rotíferos, e de outros sêres nas águas da cisterna é muito pequeno; para poupar um trabalho grande de captura, passamos a acrescentar nas águas alguns elementos nutritivos, assim, por exemplo, um *Paramecium* que existe em quantidade mínima, passa a aparecer em grandes quantidades na cultura em laboratório.

O MEIO I, êste meio foi feito como se fôsse o meio de Knopp para cultivo de algas, mas colocamos muito menos magnésio, sòmente deixando os sais que são úteis na nutrição destes vegetais. Nos primeiros dias apareceu uma película superficial que em semana já era muito grossa, cheia de *Paramecium* e com numerosas *Pleurotricha grandis*. Nas raízes de *Lemna* a quantidade de *Vorticella* era enorme. Os *Gomphonema brasiliensis* cresceram bem assim como os rotífera do gênero *Monostyla* e vários protozoa *Actinophys sol* foram encontrados. Estava em fase B-meso-saprobia. Êste meio não foi favorável nem ao crescimento dos copepodas, nem aos dos moluscos; as *Lemna* e *Elodea* morreram, ficaram castanhas, caíram no fundo. Ao fim de 5 meses é que houve um surto de *Ostracoda,* isto é, quando o meio já estava pela me-

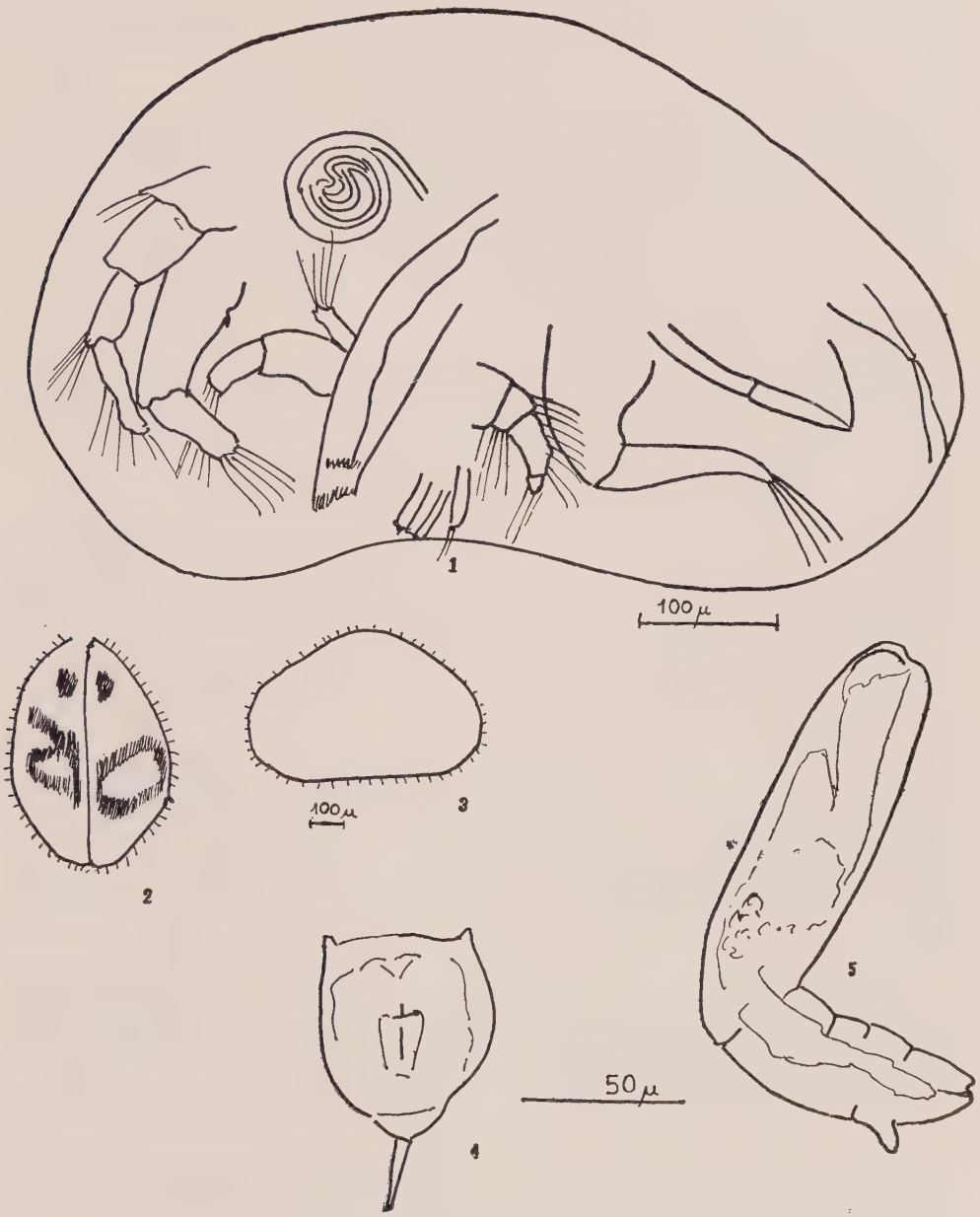


FIGURA 15

n.º 1, 2 e 3 — ostracodo *Spirocypris* sp.
n.º 4 — rotífero *Monostyla* sp.
n.º 5 — rotífero *Diglena* sp.

tade devido a evaporação, e tudo estava de côr castanha, inclusive a côr das águas que era amarelo — acastanhado — burel" côr 336 C.U.C.".

MEIO II — é apenas uma adubagem nitratada para as plantas. Deu uma leve película de *Paramecium,* e depois êstes misturados com *Brachionus* um rotífero. As plantas *Elodea* e *Lemna* não morrem, mas também não crescem, ficam como uns fiapinhos na água, depois de 5 meses caem no fundo; nesta ocasião encontram-se larvas de Chironomídeos e muita *Vaucheria* sp. (uma alga sifonada).

No início o meio estava B-meso-saprobio, depois de alguns meses passou para um grau de podridão maior: A-meso-saprobio.

MEIO III — é uma adubagem nitro-fosfo-cálcica onde se desenvolveu muito bem as esquizofíceas, a as *vorticellidae* nas raízes de *Lemna.* No fim de 5 meses o fundo é todo preto, ou melhor verde-escuro, ás águas transparentes com pouquíssimas *Lemna* vivas, mas estas em pobre estado de desenvolvimento. As *Elodea* morriam.

MEIO IV — é um adubo nitro-amoniacal semelhante ao meio de Benecke. No começo houve película com abundantes *Pleurotricha* em desenvolvimento intenso. Houve um desenvolvimento de *Elodea,* e principalmente mais intenso o das *Lemna,* que ficaram com fôlhas grandes, mais largas que o comum, e cobriram toda a superfície das águas. É o meio ótimo para as *Lemna,* para as algas heterocontadas *Tribonema.* Os moluscos *Lymnea* nasceram, cresceram e se reproduziram muito bem nêste meio B-meso-saprobio.

MEIO V — meio ácido, com pH = 5. Nada se desenvolveu, nem mesmo as esquizofíceas. Desde o começo deu uma película de numerosos cogumelos, entre eles vimos os *Fusarium.* Todas as diatomáceas, todas as *Lemna, Elodea* morreram. Apareceram muitos aneis, véus, películas, e depósitos de cogumelos. É um meio péssimo em que nenhum dos sêres que normalmente vivem na cisterna desenvolvem, tudo aí morre.

MEIO VI — é um meio amoniacal sem cálcio. No começo há um desenvolvimento de diatomáceas do gênero *Synedra* e depois do ciliado *Euplotes charon* e *Amphileptus.* As *Elodea, Lemna,* os ostracodos e os copepodos desaparecem formando um amontoado de cadáveres no fundo, dando uma decomposição A-meso-saprobio.

MEIO VII — as águas sempre se mantiveram claras, os ostracodos se desenvolvem escassamente, na película houve no comêço algumas amebas. O aspecto é pobre em comparação com o meio IV. O teor de saprobidade era B-meso-saprobio.

MEIO VIII — no início muitas diatomáceas, os protozoários *Stylonichia* predominaram nestas películas. Depois tudo foi ficando cada vez menor, e com pouco desenvolvimento: as elódeas e as *Lemna* viveram, mas muito pequeninas, embora muito verdes.

MEIO IX — formou película fina a princípio, com predominância de *Prorodron,* um protozoário ciliado. As diatomáceas *Stauroneis* chegaram a um exuberante desenvolvimento. Alguns *Actinophrys* flutuavam nas águas. As *Lemna* ficaram viçosas, mas não tão grandes como as do meio V, nêste meio IX elas tiveram fôlhas muito pequenas; as elódeas *Anacharis* é que ficaram no máximo de viço e desenvolvimento, e mesmo de maior tamanho e grossura do caule. Não houve contudo desenvolvimento de moluscos nêste meio que estêve em grao A--meso-saprobio.

MEIO X — No comêço a película formada foi muito grossa, com numerosas amebas e seus quistos, mitos *Actinophrys* sol e muitas *Vorticella* entre os *Rotífera* do gênero *Diglenea*. No fundo as diatomáceas *Gomphonema* e *Fragillaria* cresceram exuberantemente. No fim de 5 meses aparecem as *Vaucherias* assim como também alguns *Gastrotricha-*

Depois tudo morre, aparecem vermes de vida livre, e ficam vivas as diatomáceas e as *Vaucheria* nêste meio A-meso-saprobio.

Notemos que não se viu nada de insetos, pois toda a ilha do Pinheiho (laboratórios, poços, viveiros, etc...) foi intensamente dedetisada, para evitar desenvolvimento do mosquito da malária, o *Anopheles tarsimaculatus*.

Pelo exame das películas de uma semana já se pode tirar alguma conclusão sôbre as diversas condições salinas nos meios e o desenvolvimento dos protozoários: notamos que as *Vorticella* só apareceram e cresceram nas águas da cisterna quando adubadas com um pouco de nitrato, de fosfato e nos meios em que havia cloreto de sódio, magnésio, e tendo as raízes de *Lemna* como suporte. Mas o *Paramecium* aparecem e crescem bem sem o magnésio e sem o cloreto de sódio (meio I), assim como as *Pleurotricha,* sendo que estas não são tão exigentes já que crescem em meios até com 200 mg. 1. de nitrato de amônio, não crescendo contudo nos meios mais salobros, com mais magnésio e mais cloreto de sódio. Nos meios mais amoniacais desenvolve-se o *Euplotes charon* junto ao *Amphileptus* que tolera até 1000 mg.l. de nitrato de amônio, mas nesta porcentagem já tão alta não se desenvolve mais a *Pleurotricha*. As *Stylonichia* não toleram bem as águas desta cisterna, elas dão melhor em águas com pouco dos outros sais (meio VII). Nos meios supercálcicos achamos os *Prorodron* logo nas películas de 1.ª semana. As elódeas *Anacharis canadensis* são plantas de águas calcáreas, muito se desenvolveram no meio supercálcico (Meio IX).

SAPROBIDADE DAS ÁGUAS DA CISTERNA

Para assinalar o grau de podridão em que se acham as águas da cisterna usamos os sêres vivos indicadores que comprovam as saprobias. As águas da cisterna permanecem em fase de B-meso-saprobidade.

Os sêres indicadores que comprovam tal estadio de decomposição foram: os protozoários *Euplotes charon,* as cianofíceas *Oscillatoria,* os rotíferos *Brachionus*. Êste é o grau mais fraco de água mesosaprobia.

Os moluscos do gênero *Lymnaea,* que foram até hoje estudados, vivem em águas oligosaprobias ou B-meso-saprobias. Não foram encontrados nunca em águas polisaprobias. As espécies de *Lemna* vivem bem em águas B-meso-saprobias, assim como as diatomáceas *Fragillaria,* os ostracoda *Spirocypris* e o rotífero *Monostyla*. As *Vaucheria* que aparecem rara e escarçamente nas águas da cisterna, no meio de cultura cresceram bem quando êste estava A-Meso-saprobio, o mesmo se deu com as *Synedra ulna*. Outros animais que possívelmente estavam em "estádio potencial" nas águas da cisterna, pois que por exame direto nelas não foram encontrados foram: os *Prorodron,* os *Amphileptus,* e os *Paramecium,* sómente aparecendo em culturas quando estas estavam em podridão A-Meso-Saprobia.

As espécies da cisterna são oligohalobias a 2 por mil de cloretos. Nunca vimos as águas da cisterna ficar mais podres (A-Meso-Saprobias) ou ficar mais depuradas (oligosaprobias) desde que viemos á ilha, isto é, desde 1938.

PEIXES

Os peixinhos *Lebistes reticulatus* Peters foram introduzidos pela Rockfeller Foundation, como peixes larvofagos, considerados muito úteis para a diminuição do número de mosquitos aqui entre nós. Êstes peixinhos originais da Ilha da Trindade, vieram a ter o tamanho duplo dos originais, a ter côres demasiado vivas e muito variegadas. Compreende-se que seja este peixinho de grande popularidade entre os criadores de espécies ornamentais, pois êle é extremamente fertil, muito ativo, tem uma variedade muito grande de colorido e sobrevivem em águas com falta de arejamento. No aquário êle não foge, não se esconde, não é tímido, amadurece ràpidamente, é sujeito a poucas doenças. Êle tem uma resistência térmica enorme, desde 18° até 37° C. mas a zona de conforto está entre 23° e 28° C.; com forte razão foram êstes porquanto os iniciantes em aquário-técnica sempre tem sucesso com motivos que deram grande desenvolvimento ao "hobby" dos aquaristas; êste peixe. Há muita diferença morfológica entre os machos e as fêmeas; são viviparos. São graciosos, ha os peixinhos brancos, os de côr ambar, pretos, existem os de cauda em lanceta, em leque, os de cauda meio-quadrada, os de cauda em espada simples, em espada de comprimento dobrado, em espada dourada que foram obtidos por esforços artificiais de seleção e cruzamento. Podem ter uma ou duas pintas em locais diversos do corpo, as vêzes 1, ou 2 ou 3 faixas vermelhas, verdes, azues precaudiais, ou medianas.

Outra vantagem que diminue o trabalho do piscicultor de aquário é que êles podem variar a alimentação sem grande prejuízo; comem tanto daphnias, quanto vários copepodos, larvas de insetos, de crustáceos, de moluscos, que são atirados dentro do aquário com a concha partida, comem minhocas, outras larvas, carne de peixe, etc. Os que capturamos na cisterna tinham: ou nenhuma ou só uma mancha caudal, cauda em leque comum "vira-lata", de côr primeiro azulada, de-

pois esverdeada. Os nossos comem também as micro-flora e micro-fauna que fica preza nas raízes de *Elodea*.

BALANÇO DE PRODUTIVIDADE

Para completar as observações hidrobiológicas resta fazer um balanço quantitativo dos sêres vivos.

A produção encontrada na cisterna foi anualmente 6,4 gr. de peixinhos, entre os barrigudinhos comuns e os *Lebistes reticulatus*. Êstes peixinhos comem como alimento útil copepoda, ostracodos, pequenos moluscos, larvas de insetos, que devem orçar segundo os cálculos dos tratados de piscicultura em dez vêzes o peso dos peixes. A cisterna deverá produzir 320 gramas de alimento inúteis para o peixa. Êste alimento vivo utilisado pelo peixe é nutrido por sua vez direta ou indiretamente pela produção vegetal. A produção vegetal anual foi de:

Elodea	3200 gr.
Lemna	6400
Microfitos	3200
pequenas algas	800
total	13600 gr.

O conjunto que existe de ostracodos, copepodos, larvas pode ser orçado em 384 g. anuais, sendo que dêstes 64 g deve ser principalmente a comida do *Lebistes reticulatus*. As outras 320 g. são o peso proprio e o alimento dos moluscozinhos *Lymnea* que não servem de alimento aos peixinhos quando ficam grandes e de concha mais dura. Estas 384 g. de animaizinhos vivem da produção de 3840 g. de diatomáceas anualmente. A vista do que pudemos observar as diatomáceas do *GOMPHONEMETUM* parecem desenvolver a razão de 2 miligramas por cm^2 por mês, ou sejam 200.000 diatomáceas médias as que crescem por dia, por centímetro quadrado. A superfície do fundo da cisterna sendo de 3,34 m^2 deverá dar uma produção anual de 800 gr. de diatomáceas conforme verificamos. Para alimentação dos animais necessitam-se mais 3040 g. que se acham na superfície da cisterna cujos 175.000 cm^2 dariam para alojar 4.200 g. anuais de diatomáceas, mas usado para crescimento). Nesta explicação não entramos com a produa cisterna só aloja 3040 g. (isto é o 72% da superfície da cisterna é ção plantônica de diatomáceas, o que daria margem mais favorável ainda a tal produtividade; e, resumindo:

Peixe LEBISTES RETICULATUS, 6,4 g.

Animais usados pelos peixes:

Ostracoda
Copepoda
larvas 64 g.
Molusca, etc. 1420 g.

Produção vegetal

Diatomáceas do Gomphonemetum:	3840 g.
Lemna	6400 g.
Elodea	3200 g.
Vários	800 g.
Total	14240 g.

EVOLUÇÃO FUTURA DAS ÁGUAS DA CISTERNA

Esta cisterna está em fase de aterramento, e vai-se estupindo pelo acúmulo constante de aluviões, pelas fôlhas que caem das árvores, e porque as suas paredes se desfazem pouco a pouco, sem que haja conservação. O seu destino será, se não fôr bem cuidada, o futuro desaparecimento.

Quanto as águas elas deverão passar do atual estádio B-meso-saprobio para um grau mais forte de decomposição, A-meso-saprobio, e depois na fase final o polisaprobio. Se por acaso houver uma muito grande enchente, e enormíssima queda de chuva com inundações, de modo que ela venha a transbordar como aconteceu em 1940, ela reiniciará o seu ciclo novamente: catarrobia — oligosabrobia — mesosaprobia — etc., e naturalmente começará novamente com a fase de água doce, para passar ao regime oligohalino em que se mantém.

Será interessante o Instituto Oswaldo Cruz mante-la em estado de conservação, pois servirá de tema de estudo para os alunos do curso de hidrobiologia, fazendo parte do material escolar.

As leguminosas de Pernambuco e Paraíba

(Trabalho subvencionado pelo Conselho Nacional de Pesquisas).

A. Ducke

Minha proposta para ser Recife o ponto de partida das pesquisas botânicas no Nordeste do Brasil, apresentada ao Conselho Nacional de Pesquisas, obedeceu a considerações que passo a expor. Para obter resultado apreciável no prazo de um só ano era indispensável o apoio por parte de uma instituição possuidora de uma secção de botânica, como no Nordeste só se encontram em Recife e Fortaleza; Recife mereceu a preferência, por ser a flora de Pernambuco uma das menos estudadas do Brasil inteiro. Quando, em 1937, visitei o Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco, então dirigido pelo Dr. A. Barcelos Fagundes, verifiquei a presença, na zona da mata dêsse Estado, de espécies supostamente limitadas à hiléia amazônica, em contradição com os dizeres da "Flora Brasiliensis" de Martius; animou-me isso para realizar, nos anos de 1947 a 1950, alguns estudos nos arredores de Recife, prestigiados pelo atual diretor daquele instituto, agr.º Mario Bezerra de Carvalho, o qual pôs à minha disposição seu auxiliar botânico, agr.º Dárdano de Andrade Lima. O material coletado foi estudado no Rio e em Belém (Instituto Agronômico do Norte) e contribuiu para várias publicações cuja principal é a Revisão das Maçarandubas, no Anuário Brasileiro de Economia Florestal n.º 3. Fator muito importante em favor da escolha de Recife foi a presença do herbário Pickel, no referido instituto.

Dom Bento Pickel, da ordem de São Bento, foi durante muitos anos professor de botânica na antiga Escola Superior de Agricultura de Tapera (Pernambuco) e deixou um herbário cuja parte classificada na Alemanha antes da guerra substituia até certo ponto os inacessíveis tipos das espécies, quase todos conservados na Europa. Além destas vantagens eu tinha a certeza do apoio para pesquisas na vizinha Paraíba, por parte do agr.º Lauro Pires Xavier, executor do Acôrdo Florestal no Estado da Paraíba, meu antigo companheiro na "Rubber Survey Party" (comissão mista brasileira e norte-americana) de 1940/41 e grandemente interessado no estudo da flora florestal do seu Estado.

O herbário Pickel, que abrange cêrca de 4.600 números, consistia até a sua recente reforma de duas partes cuja maior já estava

classificada. Uma lista dos nomes foi recentemente publicada por DÁRDANO A. LIMA, no Boletim da Secretaria de Agricultura de Pernambuco. sob o nome "Catálogo do herbário da Escola Superior de Agricultura de Tapera, Pernambuco"; os nomes aí estão como os deixou o padre. Dessas classificações, uma parte, de autoria do professor PILGER (do Museu Botânico de Berlim-Dahlem) ou do próprio PICKEL, estava quase sem exceção correta e muito nos orientou na identificação do material posteriormente adquirido; a outra parte tinha de ser re-classificada, por conter numerosos binômios errados. A parte não classificada e desde 1937 abandonada foi agora posta em ordem pelo Dr. DÁRDANO conforme as famílias e restaurada na medida das possibilidades. Obedecendo a um plano prèviamente estabelecido, escolhi para objeto principal de estudos as leguminosas, a família mais importante da flora brasileira, pelo número de espécies e seu valor econômico.

Na parte já classificada do herbário PICKEL, constante do referido catálogo, havia 122 espécies (26 das quais tiveram de ser re-classificadas) de leguminosas nativas do Estado de Pernambuco (incluindo as poucas coletadas na vizinha Paraíba); encontrei ainda 34 na parte só agora identificada, o que eleva o número total das espécies de leguminosas daquele herbário para 156. Outras 44 foram coletadas pelo Dr. DÁRDANO antes de setembro de 1951, começo dos trabalhos conjuntos para o Conselho Nacional de Pesquisas, os quais forneceram mais de 40 espécies. O número total das espécies de leguminosas atualmente (setembro de 1952) existentes no herbário do I.P.A. de Pernambuco é de 240. Se adicionarmos a esta cifra mais 16, por nós não encontradas, porém citadas na "Flora" de MARTIUS para Pernambuco, Alagoas ou Paraíba, as espécies de leguminosas registradas para a flora desta região serão 256. Das 16 espécies acima mencionadas, algumas foram coletadas em lugares que atualmente talvez pertençam a outros estados (Piauí, Bahia). O número total das espécies citadas para os três Estados, na "Flora" de MARTIUS, é apenas de 47, verificando-se assim o aumento de 209 espécies, por coleções recentes.

O herbário PICKEL é rico em espécies herbáceas e arbustivas, porém paupérrimo em espécies arbóreas; por êsse motivo concentramos nossa atenção sôbre as árvores e principalmente as de porte elevado.

O plano prévio de trabalhos incluia pesquisas nos Estados de Alagoas e Paraíba, cuja flora está tão pouco estudada quanto a de Pernambuco. Não me foi possível visitar Alagoas, porém fiz duas excursões à Paraíba para estabelecer contacto com o Dr. LAURO XAVIER e examinar seu herbário no qual encontrei 95 espécies de leguminosas, tôdas também encontradas em Pernambuco.

Em seu livro "As regiões naturais de Pernambuco, o meio e a civilização", o professor VASCONCELOS SOBRINHO, da Escola Superior de Agricultura de Pernambuco, divide êsse Estado em duas zonas: a da mata e a da catinga. A zona da mata, cuja largura varia segundo VASCONCELOS desde menos de 70 quilômetros até mais de 300, é subdividida em duas subzonas: a marítima e a continental. A maior parte dos ar-

redores de Recife e a totalidade dos de João Pessoa pertencem à primeira, e sòmente alguns subúrbios de Recife atingem o limite da segunda.

A subzona marítima ou do litoral é, no citado livro, definida como "muito estreita, atingindo sua maior largura no município de Goiana onde sobem os tabuleiros que constituem um dos aspectos mais típicos". Compõe-se de praias, dunas e mangues cuja flora não diverge essencialmente da de lugares semelhantes ao longo de tôda a costa atlântica tropical sulamericana; de morros argilosos com vegetação predominantemente arbustiva, tipo capoeira, e de restingas e tabuleiros. Não existem matas de porte alto. Tive oportunidade de conhecer esta zona, ao Sul e ao Norte de Recife e daí até a capital da Paraíba. Nas restingas encontrei uma flora que em seu aspecto geral lembra as do Rio de Janeiro mas é em grande parte composta de espécies diferentes ou vicariantes. No limite Norte de Pernambuco começam os tabuleiros que seguem em direção a João Pessoa e cujas partes mais elevadas oferecem aspectos do "cerrado" do Brasil Central, com as características leguminosas arbustivas *Harpalyce brasiliana* e *Andira laurifolia*. Outra leguminosa notável dos tabuleiros altos é *Hymenolobium alagoanum*, dantes só conhecido de Alagoas. Êsses tabuleiros e restingas diferem dos do litoral cearense, conquanto possuam em comum a mangabeira:a maçaranduba do litoral pernambucano é *Manilkara Salzmanni*, e a do Ceará é *Man. triflora*. Em tôda a zona marítima abundam ervas e subarbustos entre os quais as leguminosas são representadas por grande número de indivíduos e bastante numerosas espécies da tribo *Hedysareae* (gêneros *Stylosanthes, Zornia, Desmodium* e *Aeschynomene*); nas restingas, algumas espécies arbustivas de *Cassia* e uma *Calliandra* chamam a atenção por suas flores vistosas.

Na subzona continental da zona da mata predominam as culturas (de cana principalmente), e poucos são os remanescentes das primitivas florestas que nos possam dar alguma idéia a respeito da vegetação primária. Nos arredores do Recife existem algumas "reservas" de mata pluvial bem conservada embora desfalcada de um certo número de arvores de valor econômico. Sua aparência é bastante exuberante, embora em parte alguma elas ostentem a riqueza em epífitas das florestas do Sueste nem o número e o grande porte dos cipós amazônicos; o número das espécies é muito menor que naquelas. A mais próxima da capital é a de Dois Irmãos, no morro entre o Jardim Zoo-botânico e o lugar Brejo de Macacos; mais distantes ficam a da Usina Mussurepe na estrada da Aldeia, e a de Gurjaú perto da estrada do Cabo. Coleções e observações foram ainda feitas na mata da Usina Santa Tereza, de Goiana, a cêrca de 65 quilômetros ao Norte do Recife. Notei que essas matas não são prejudicadas, em seu aspecto geral, pelos longos períodos secos do verão, ao contrário do que sucede na Amazônia. É no verão que aí floresce a totalidade das árvores, sobretudo nos seus primeiros meses (os mais secos), outubro a dezembro; em janeiro êsse número começa a decrescer, e já em abril está reduzidíssimo. No inverno (maio a agôsto) não há árvores florestais em flor, e raras fru-

tificam. As árvores que observei nessas matas pertencem em parte a espécies cuja área geográfica se estende até o Sul tropical, como o jequitibá (*Cariniana brasiliensis*), o buranhem (*Pradosia lactescens*), a urucuba (*Virola Gardneri*), o pau d'óleo (*Copaifera nitida*) e o pau Brasil (*Caesalpinia echinata*); outras eram até agora conhecidas sòmente na Amazônia, por exemplo o visgueiro (*Parkia pendula*, a árvore mais típica da paisagem), o cumaru verdadeiro (*Coumarouna odorata*), a sucupira açu (*Diplotropis purpurea*) e o camaçarí (*Caraipa densifolia*). Um bom número foi até agora observado só na Bahia. Algumas espécies, como por exemplo o oiticoró (*couepia rufa*), o barabu da mata (*Peltogyne recifensis n. sp.*), duas espécies novas de jabotá (*Hymenaea*) e a nova *Pradosia verrucosa* estão por enquanto registradas só para Pernambuco. Raras são as árvores florestais de porte grande, distribuidas para o Norte até a Amazônia e para o Sul até o Rio de Janeiro, como sucede com a moracea *Clarisia racemosa* (oiticica em Pernambuco e no Rio, guariuba na Amazônia). Das 4 espécies de *Strychnos* observadas nesta subzona, *S. divaricans* que é própria da mata úmida era sòmente conhecida no Pará e Maranhão, enquanto a área geográfica das três outras se estende do Nordeste ao Sul do país. A subzona da mata divide-se segundo Vasconcelos em mata úmida que abrange todo o Sul do Estado desde a fronteira de Alagoas até a bacia do Capibaribe, e a mata sêca que começa aqui e vai até os limites com o Estado da Paraíba; a flora das duas difere, segundo o autor citado, principalmente na freqüência de indivíduos de cada espécie. Certas espécies parecem próprias da mata úmida, outras da mata sêca; entre as últimas podemos apontar como as mais notáveis o pau Brasil coletado por Pickel em Tapera (região do Capibaribe), e o pau santo (gênero *Zollernia*) representado por duas espécies das quais uma (*Z. paraensis*) é distribuida para o Norte até o Pará, a outra (*Z. ilicifolia*) para o Sul até o Rio.

A leguminosa arbórea mais freqüente e mais característica, comum a ambas as subzonas da zona da mata, é a sucupira mirim, *Bowdichia virgilioides*, cuja copa florida dum lindo violáceo claro lembra as belas leguminosas amazônicas. O ornamental visgueiro (*Parkia pendula*) e o pau d'óleo (*Copaifera nitida*) limitam-se à mata primária da subzona continental; o pau ferro (*Dialium guianense*) ocorre na mesma subzona, na mata e na capoeira. O gênero *Inga* é bem representado em tôda a zona da mata; na zona da catinga é restrito a serras úmidas.

Os arredores de João Pessoa pertencem à subzona marítima que aí se estende a longa distância rumo do centro. Mais para o Norte, a mata sêca parece aproximar-se da costa: Lauro Xavier informa que no município de Mamanguape o pau Brasil é freqüente. No mesmo município, coletou o material botânico da voquisiácea *Gallisthene fasciculata*, nunca vista em Pernambuco. Na rodovia Recife-JoãoPessoa, os últimos restos da mata pluvial caracterizada pela presença do vistoso visgueiro são encontrados pouco aquém do limite dos dois Estados.

A zona da catinga divide-se segundo VASCONCELOS em duas subzonas, Agreste e Sertão, e sua flora é-nos conhecida pelas coleções feitas nas partes limítrofes da Bahia, do Piauí e do Ceará,por botânicos entre os quais se destaca GARDNER. A subzona do Agreste é, segundo o mesmo autor, a dos cereais; o Sertão, a do algodão. Não possuo dados sôbre as espécies da flora espontânea que as caracterizam na parte que pertencem a Pernambuco, mas penso que não haverá diferenças essenciais em relação à flora sertaneja dos estados vizinhos. Há, na zona da catinga, de Pernambuco, regiões de pouca altitude e de clima quente e sêco (vale do São Francisco, bastante explorado na Bahia); outras, altas até 1 000 metros, com clima temperado e úmido (Garanhuns, Serra Negra); outras, ainda, igualmente altas e temperadas porém sêcas (Triunfo, por exemplo). Quanto à flora das últimas, nada sabemos. Da flora das terras altas e úmidas temos algum conhecimento por coleções na Serra Negra (DÁRDANO A. LIMA) e uma excursão do autor a Garanhuns; aí existem espécies de *Inga*, e abunda a maçaranduba *Manilkara rufula*, largamente dispersa pelo Nordeste (Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Bahia) mas restrita a altitudes de 600 m. para cima. A flora das terras quentes e sêcas da zona da catinga é-me conhecida pelo muito que já se publicou sôbre ela em outros estados nordestinos e pelo que vi no Ceará; é caracterizada pela abundância de euforbiáceas e malváceas e, em certos trechos, de cactáceas, e pelo grande número de espécies e sobretudo indivíduos de leguminosas arbóreas e arbustivas dos gêneros *Mimosa* e *Cassia*. Em contraste com a zona da mata, a da catinga contém numerosas espécies cuja área geográfica não se estende rumo Sul ou Norte como freqüentemente sucede com as daquela, mas atravessa o centro do continente para Sudoeste alcançando em muitos casos o Paraguai e o Noroeste da Argentina (*Prosopis ruscifolia, Torresea cearensis,* e muitas outras). A catinga do Nordeste floresce no inverno, principalmente no fim das chuvas (março, em Pernambuco).

LITERATURA PRINCIPAL

ANDRADE LIMA, DÁRDANO: Catálogo do herbário da Escola Superior de Agricultura de Tapera (Pernambuco).

AMSHOFF, G. J. H.: *On South American Papilionaceae,* Utrecht (1939); *Papilionaceae* em Pulle, Flora of Surinam (1939).

BENTHAM: *Leguminosae* em Martius, Flora Brasiliensis XV, com as revisões posteriores de *Cassia,* das *Mimosoideas* e das *Dalbergieas*.

BURKART, A.: Las Leguminosas argentinas, silvestres y cultivadas. II.ª edição. Buenos Aires (1952).

DUCKE, A.: As Leguminosas da Amazônia Brasileira 2.ª ed. Bol. Técn. Instituto Agronômico do Norte, Belém (1949).

HOEHNE, F. C.: Flora Brasílica, *Leguminosas,* São Paulo (1940-41); *Meibomnia,* anexos Mem. Instituto Butantan Sec. Bot. I (1921).

MACBRIDE, J. FRANCIS: Flora of Peru, *Leguminosae*.

RECORD, SAMUEL J. and HESS, ROBERT W.: Timbers of the New World. New Haven (1943).

SANDWITH, N. Y.: Trabalhos sôbre a flora da Guiana britânica, em números sucessivos do Kew Bulletin.

TAUBERT: *Leguminosae* em Engler-Prantl, Naturl. Pflanzenfamilien.

VASCONCELOS SOBRINHO: As regiões naturais de Pernambuco, o meio e a civilização. Rio e São Paulo (1949).

A família das Leguminosas é uma das mais naturais do sistema botânico, não podendo ser subdivida senão em grupos de gêneros, chamados subfamílias porém ligados entre si por múltiplas formas de transição; estou nisso de acôrdo com BURKART, HOEHNE, KUHLMANN, MACBRIDE, RECORD, SANDWITH, STANDLEY. Quanto aos gêneros e espécies, uso de preferência os de BENTHAM em "Flora Brasiliensis", com algumas modificações, impostas por estudos posteriores e aceitas pela maioria dos autores modernos. O sistema de BRITTON e ROSE servirá para catalogar a flora da América do Norte, isolada, mas é impróprio para a da América do Sul e do resto do mundo. As espécies aquí descritas como novas foram estudadas não só em material de herbário mas também vistas e examinadas em estado vivo.

Os nomes dos coletores de espécimes aqui citados estão abreviados da maneira seguinte: A.L. = ANDRADE LIMA (DÁRDANO DE ANDRADE LIMA). D. = DUCKE. L.X. = LAURO XAVIER. M. = MAGALHÃES (GERALDO MENDES MAGALHÃES). P. = DOM BENTO PICKEL. V.S. = VASCONCELOS SOBRINHO.

Subfam. LEGUMINOSAE MIMOSOIDEAE

Subfamília pantropical e ainda abundante nos subtrópicos do hemisfério austral e parte adjacente da zona temperada. Rica de espécies no Nordeste brasileiro, onde, nas catingas sertanejas, algumas ocorrem em tal número de indivíduos que no fim da estação chuvosa suas flores, na maioria bem alvas, se tornam características na paisagem.

INGA Willd., "ingá". — Um dos mais naturais entre os gêneros grandes das leguminosas, bem caracterizado pela massa branca, fibrosa e polposa que reveste a testa membranosa das sementes. Restrito à América tropical inclusive as Antilhas e a zona subtropical meridional, com mais de 250 espécies descritas. O centro maior da dispersão está na hiléia (89 espécies registradas para a Amazônia brasileira, em 1949); ricas em espécies são ainda as matas pluviais tropicais e subtropicais dos Andes, da América Central e do Sueste brasileiro. As poucas espécies nordestinas são árvores pequenas, restritas às regiões de mata; a polpa das sementes de tôdas é doce e comestível.

I. AFFINIS DC. — "Província Pernambuco", Gardner 985 (Flora Brasiliensis). Espécie comum no Sul subtropical mas cuja presença em Pernambuco é improvável.

I. BAHIENSIS Bth. — É esta a espécie mais comum de ingá, nos arredores de Recife e João Pessoa e, ao que parece, em tôda a zona da mata inclusive o litoral, de preferência em lugares úmidos ou pantanosos ou perto d'água. No herbário PICKEL encontrei espécies classificados como *bahiensis* (P. 2 856, determ. KILLIP), *spuria* H.B.K. (P. 2 922, det. KILLIP), *edulis* Mart. (P. 888, det. PILGER) e *ingoides* (RICH.) Willd. (P. 1.246, det. PILGER), porém todos pertencem a uma só espécie cujo nome com muita probabilidade será *bahiensis*. Pelo exame de abundante material pude verificar forte variabilidade na largura das asas do raquis foliar, no comprimento do pedicelo das flores, e na forma dos frutos; êstes, quando novos, são cilíndricos como os de *ingoides* e *edulis* de tôdas as idades, ficando depois mais ou menos tetrágonos, com duas faces abertas lembrando *affinis* e *spuria*. A descrição de *I. bahiensis* baseia-se em material incompleto e mal conservado; vi uma fotografia do tipo, distribuida pelo Field Museum. — Bahia (Fl. Bras.); freqüentemente cultivada em S. Paulo e nas serras do Ceará, para sombreamento de cafezais.

I. BLANCHETIANA Bth. — Não rara nas capoeiras das terras altas dos arredores de Recife. Paraíba: Cachoeira Guarabira (L.X.) — Bahia.

I. CAPITATA Desv. *var. tenuior* Bth. — Freqüente nas terras altas perto de Recife, na submata e em capoeiras; também em Tapera (P.). Direfe da *capitata* típica de tal forma que talvez seja preferível consi derá-la espécie própria. — Rio de Janeiro, freqüente.

I. CILIATA Presl. (com dúvida). — "Ad Pernambuco" (Fl. Brasil). Os espécimes do herbário PICKEL, procedentes de Tapera (P. 1 173 e 3 387, det. PILGER), divergem da descrição em Fl Bras. pelas fôlhas pilosas em cima e as glândulas longamente estipitadas; plantas idênticas foram coletadas na Serra de Baturité, Ceará (HUBER, DUCKE). — Bahia e Rio, nos morros.

I. FAGIFOLIA (L.) Willd., "ingá-mirim" (Pernambuco); "ingaí" (Ceará). — Comum nos arredores de Recife e João Pessoa e provàvelmente em tôda a zona da mata, em margens de rios e riachos. Largamente distribuida na América do Sul tropical, mas ainda não observada no Amazonas; várias formas encontram-se em cultura.

I. FLAGELLIFORMIS (Vell.) Mart. — Pernambuco: Pombos (P. 1 855 e 2 870). — Rio, Minas, Pará.

I. MARGINATA Willd. — Paraíba: mata baixa entre João Pessoa e Cabedelo (L.X.); Pernambuco (segundo A.L.). — América meridional tropical (inclusive Panamá) e subtropical. Certas formas encontradas no Sul do Brasil aproximam-se de *I. fagifolia*.

I. NUDA Salzm. ex Bath. (difere ligeiramente da descrição em Fl. Bras.). — Pernambuco: Tapera (P. 1 199), São Vicente (P. 1 645), Glória de Goitá (P. 4 045). — Bahia.

I. STIPULARIS DC.? — Um espécime coletado em Paulista perto de Recife (A.L. 52-1 002) corresponde bastante à descrição na Fl. Bras. — Pará e Amazonas (vulgar); Guiana.

I. SUBNUDA Salzm. ex-Bth. — Pernambuco: Serra Negra (1 000 m.), A.L. 51-942, florífera e com frutos. Corresponde muito bem à descrição em Fl. Brasil e à fotografia do tipo (Field Museum). — Bahia.

I. THIBAUDIANA DC. — Freqüente em capoeiras nas terras altas ao redor de Recife. — América do Sul tropical.

PITHECOLOBIUM Mart. (alguns escrevem *Pithecellobium*). — Êste gênero pantropical não é natural, porém mais vale conservá-lo (por enquanto) tal qual está na Fl. Bras. (e nos trabalhos recentes de MACBRIDE, SANDWITH e STANDLEY) do que subdividí-lo em gêneros ainda mais artificiais como fizeram BRITTON e ROSE. Um sistema verdadeiramente natural dêste complexo só poderá ser estabelecido quando estiverem conhecidos os frutos da maioria das espécies, cujo centro maior de dispersão é a Amazônia. O número das espécies descritas vai além de 200.

P. AVAREMOTEMO Mart. (Secção *Abaremotemon* Bth.), "barbatimão" (A.L). — "In mediterraneis Prov. Pernambuco" (Fl. Bras.). Recife, Goiana, João Pessoa, mata e capoeira de terra alta; árvores bastante grandes ocorrem em mata primária. — Rio, Bahia, Ceará.

P. CAULIFLORUM (Willd.) Bth. (secção *Caulanthon*). — Árvore pequena com bonitas flores róseas, freqüente em margens de riachos e lagoas. Recife, Tapera, João Pessoa. — Das Guianas e do Perú até a zona subtropical do Sul, brasileira e argentina.

P. DIVERSIFOLIUM Bth. (secção *Unguis cati* Bth.), "carcarazeiro" (A.L.). — Árvore pequena da catinga sêca do sertão: Pernambuco, encosta da Serra Negra (A.L. 50/727); Paraíba: Tabaiana (P. 1 419). — Bahia, Minas, Piauí.

P. FILAMENTOSUM Bth. (secção *Abaremotemon* Bth.). — Árvore pequena ou arbusto, freqüente no litoral de Pernambuco e da Paraíba (Recife, Goiana, João Pessoa, etc.), em restingas arenosas e tabuleiros. — Bahia.

P. FOLIOLOSUM Bth. = *P. acacioides* Ducke (secção *Chloroleucon* Bth.), "jurema branca" (P.) ou "arapiraca" (A.L.). — "Ad ripas fluminis Capibamba (1), Pernambuco", Gardner (Fl. Bras.). Árvore baixa, de larga copa umbeliforme quando em lugar aberto, lembrando o aspecto de certas *Acacia* africanas. Pernambuco e Paraíba, freqüente no litoral (Recife, João Pessoa, etc.) e no Sertão, mas rara na zona da mata (aqui só em lugares secos). — Do Pará até o Nordeste do Brasil. — *P. acacioides* é sinônimo da presente espécie, à qual pertence ainda Spruce 822, de Santarém (Pará), atribuído por BENTHAM ao *P. parvifolium* Bth. da parte Norte dos trópicos americanos.

P. MULTIFLORUM (H.B.K.) Bth. (secção *Samanea* série *Parviflorae* Bth.), "canafistula" (nome mais freqüentemente dado a algumas espécies de *Cassia*. — Árvore pequena ou mediana do sertão, freqüente em lugares inundáveis pelas cheias do inverno; as fôlhas persistem no verão em estado sêco e são apreciadas pelo gado. Pernambuco: Petro-

(1): O "Capibamba" é evidentemente o Capibaribe.

lândia (A.L. 52-1 030); Paraíba: Patos e outros lugares do sertão (L. X.). — América tropical e subtropical meridional, mas não em tôda parte.

Burkart o.c.p. 108 usa para esta planta o binômio *Arthrosamanea polyantha* (Spreng) Benth. Não tenho elementos para discutir a prioridade do nome da espécie, mas certo estou de que se trata de uma espécie isolada, sem maiores afinidades com a série *Subarticulatae* Benth., transformada por BRITTON e ROSE no seu "gênero" *Arthrosamanea*. O legume de *P. multiflorum* assemelha-se ao de *Plathymenia*. Menor afinidade ainda tem ela com as outras espécies incluídas por BENTHAM na mesma série *Parviflorae* (*niopoides* e *polycephalum*).

P. PEDICELLARE (DC.) Bth. (secção *Samanea* série *Carnosae* Bth.), "jaguarana". — Árvore freqüente em tôdas as matas dos arredores altos de Recife e que em mata primária alcança porte elevado. O legume é lenhoso (não carnoso!), bivalvado, com deiscência tardia e lenta. — Da hiléia até o Rio de Janeiro.

P. POLYCEPHALUM Bth. (secção *Samaneae* série *Parviflorae* Bth.), "camunzé", "canzenzé" ou "camondongo" (P., A.L., L.X.). — Árvore pequena ou mediana, comum em muitos lugares no Nordeste porém até agora não observada nos arredores do Recife. Pernambuco: Tapera e Caruaru (P.), Serra Negra (A.L. e M.); Paraíba: João Pessoa, mata (L.X.). — Largamente distribuida pela América do Sul tropical; na Amazônia, só encontrado no Território do Acre.

Esta espécie deverá ser incluída no gênero *Albizzia* Durazz., se êste fôr conservado; seu nome será então *Albizzia polycephala* (Bth.) KILLIP. Não disponho de material botânico suficiente e de várias origens, nem de literatura, e, na minha qualidade de botânico de campo, ainda menos de tempo para estudar a fundo o problema da subdivisão do gênero artificial *Pithecolobium*. Por êstes motivos acompanho a orientação de MACBRIDE em "Flora of Peru" 13:48 (1913).

P. SAMAN (Jacqu.) VAR. ACUTIFOLIUM Bth. (secção *Samaneae* série *Carnosae* (Bth.), "bordão de velho". — Árvore baixa ou bastante alta; tronco com espessa casca suberosa; frutos indeiscentes, carnosos, com cheiro agradável e sabor adocicado, muito procurados pelo gado. Pernambuco: litoral de Recife e Olinda, em indivíduos isolados; Paraíba: Guarabira (L.X.). — Pará, Maranhão, Ceará; Perú?

Esta planta difere do típico *saman*, da zona atlântica de Colômbia e Venezuela, em vários caracteres das fôlhas e dos frutos; por não conhecer aquêle a não ser num exemplar cultivado, julgo conveniente deixar o assunto para ser resolvido por algum botânico familiarizado com a flora do Norte da América do Sul. O exemplar mencionado acha-se no horto do Museu Paraense EMILIO GOELDI e foi obtido de uma semente vinda de Barbados; é uma árvore muito grande, de casca simplesmente rugosa, não suberosa.

P. saman é o tipo do gênero *Samanea* Merrill que corresponde à série *Carnosae* Bth. com exclusão do *P. pedicellare* cujo legume é lenhoso e deiscente. Próxima de *saman var. acutifolium* e talvez uma

mera forma do mesmo é *Pithecolobium inopinatum* (Harms) Ducke = *Serianthes inopinata* Harms, Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahlem 11:55 (1930); distingue-se apenas pelo porte muito grande e o fruto maior, sobretudo muito mais grosso. Vi árvores espontâneas no Sul de Minas; vários exemplares são cultivados no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, com o nome vernáculo de "corticeira" (2).

ENTEROLOBIUM Mart. — Difere de *Pithecolobium* ùnicamente pelo fruto, mas é por todos os autores conservado como gênero, o que, segundo MACBRIDE o.c. pag. 64, é escassamente justificável quando se aceita *Pithecolobium* no sentido de BENTHAM. As poucas (6 a 8) espécies habitam a América tropical.

E. CONTORTISILIQUUM (Vell.) Morong = *E. timbouva* Mart., "timbaúba", "tambor" ou "tamboril". — Árvore de tronco grosso e copa larga, dispersa pelo Estado de Pernambuco em lugares úmidos (A.L.). — Do Pará e Amapá até Rio Grande do Sul e Argentina.

E. ELLIPTICUM Bth. — "Serra de Mato Grosso, prov. Pernambuco", GARDNER 2 834 (Fl. Bras.). Não conheço êsse lugar. — Maranhão (Grajaú), Bahia, Minas, Goiás e São Paulo.

CALLIANDRA Bth. — Numerosas espécies (cêrca de 160 descritas) na América tropical e subtropical, poucas nos trópicos africanos e asiáticos; muitas no Brasil Central. Tôdas são arbustos ou árvores abaixo da estatura mediana; a maioria tem flores vistosas (róseo-purpúreas) e algumas são cultivadas em jardins. O gênero é um dos mais homogêneos entre as Mimosoideas.

C. ABBREVIATA Bth. — "Rio Prêto prope Santa Rosa, Pernambuco", GARDNER 2 835 (Fl. Bras.). Não conheço a planta nem a localidade. — Também citada para o Piauí.

C. BLANCHETII Bth. — Pernambuco: Russinha (P. 3 212) e Floresta, Airí (A.L. 49-180), na catinga. — Bahia.

C. BRACTEOSA Bth. — Pernambuco: Tapera (P. 3 726 e 3 758), à beira do rio. — Minas.

C. AFF. PECKOLTI Bth. — Arbusto pequeno, ornamental quando em flor, comum em restingas arenosas e tabuleiros dos arredores de Recife (D. e A.L. 62 e 91), Goiana (A.L. 50-754) e João Pessoa (D. 2 287). Corresponde na maioria dos caracteres à descrição da *C. Peckolti* (incompleta: falta o fruto), porém devemos hesitar em identificar a planta do litoral do Nordeste com uma espécie só conhecida da região serrana do Estado do Rio (Cantagalo), sem ao menos ter visto o tipo ou uma fotografia do mesmo.

P. PORTORICENSIS (Jacqu.) Bth. — Arbusto ou arbúsculo de flores modestas (estames brancos). Em Pernambuco, coletado em Tapera (P.); visto nos arredores de Recife. — Disperso pela América tropical,

---

(2) Dêstes se coletou o material típico de *Serianthes inopinata*. HARMS comparou-o com o acima referido *P. saman* do Museu Paraense; se o tivesse comparado com o *P. s. var. acutifolium*, logo se teria apercebido da estreita afinidade com êste.

desde o México até a Bolívia e o Nordeste brasileiro mas em muitos lugares aparentemente apenas subespontâneo.

C. UMBELLIFERA Bth. — Arbustinho de flores esverdeadas. Pernambuco: Serra Araripe, A.L. e M. 52-1 090. Vi a espécie no Crato, Ceará, sua localidade típica. — Piauí e Sul do Maranhão.

C. VIRGATA Bth. — "Pernambuco" (sem localidade), MARTIUS (Fl. Bras.). Não conheço a espécie. — Minas, Goiás.

ACACIA Willd. — É êste o gênero maior das Mimosoideas (500 ou mais espécies, porém a maioria das mesmas habita África e Austrália e relativamente poucas a América, onde sua área geográfica abrange a zona tropical e parte da zona temperada do Sul (até o centro da Argentina). O gênero é pouco natural, porém menos heterogêneo que *Pithecolobium;* os gêneros menores em que o subdividiram BRITTON e ROSE foram rejeitados pelos principais estudiosos da flora da América tropical (BURKART, MACBRIDE, SANDWITH, STANDLEY).

A. BAHIENSIS Bth. — Pernambuco: Garanhuns (P. 2 183), Taquaretinga (P. 1 456), Serra Negra (A.L. 51-948). Paraíba: catinga litorânea (L.X.). — Bahia.

A. FARNESIANA (L.) Willd., "coronha" ou "esponja". — "Prov. Pernambuco, *sat frequens*" (Fl Bras.). Comum em todo o Nordeste onde é pelo menos subespontânea; sabe-se que é originária da América tropical, mas não se sabe qual parte. Cultivada em muitos países tropicais e alguns temperados; larga escala, na parte mediterrânea da França, para extração do perfume das flores ("cassie" ou "fleur de cassie", segundo BURKART o.c.).

A. GLOMEROSA Bth., "espinheiro" (como várias outras mimosoideas). — Árvore pequena, freqüente ao longo de estradas nas terras altas de Recife e espalhada pelo interior de Pernambuco e Paraíba. — América tropical; ausente da Amazônia.

A. PANICULATA Willd. — Arbusto escandente. Pernambuco: Tapera (P. 2 135 e 3 001, "*A riparia* H.B.K." det. STANDLEY); Paraíba: Alagoinha (L.X.). — América tropical e Antilhas; falta na Amazônia, exceto o Território do Rio Branco.

A. SP. ? — Árvore pequena. Pernambuco (sertão): Bom Nome, A.L. e M. 52-1 049.

SCHRANCKIA Willd. — Gênero composto de cêrca de 15 espécies; distingue-se de *Mimosa* sòmente pelo fruto. América tropical e subtropical; uma das espécies também na África.

SCH. LEPTOCARPA DC., "malicia". — Cipòzinho subarbustivo rasteiro, comum ao longo de caminhos em Pernambuco e Paraíba, principalmente nos arredores de habitações. — América tropical e Antilhas; citada também para a África ocidental.

MIMOSA L. — Êste gênero bem natural é o segundo das Mimosoideas, quanto ao número das espécies (cêrca de 400 segundo BUKART); é pantropica (e subtropical) como Acacia, porém predominantemente americano. O centro maior acha-se nas regiões altas e sêcas do Brasil Central (Goiás e Minas); um outro, menor, na América Central.

M. BARBIGERA Bth. ? — Subarbusto pequeno, freqüente em tabuleiros arenosos nos arredores de Goiana, Pernambuco (P. 3 923) det. STANDLEY; D. e A.L. 109). A classificação da espécie carece de confirmação. — Goiás.

M. BORBOREMAE Harms. — Pernambuco: Garanhuns (P. 2 171); Paraíba: Campina Grande (P. 3 885). Êstes espécimes correspondem perfeitamente à descrição do tipo (Paraíba: Serra Borborema, Jardim Parelhas, Luetzelburg 12 455). As localidades indicam que a espécie habita altitudes subtropicais.

M. CAESALPINIAEFOLIA Bth., "sabiá". — Arbusto trepador robusto. Pernambuco: Olinda (P. 921). — Maranhão (comum nos arredores de São Luís), Piauí, Ceará.

M. CYLINDRACEA Bth. — Pernambuco. Tapera, em capoeira (P. 1 065, det. PILGER); Buique (V.S., I.P.A. 770). — Bahia e Minas.

M. INVISA Mart., "malicia". — Semiarbusto pequeno, mais ou menos trepador ou rasteiro, freqüente em margens de caminhos na zona da mata de Pernambuco e Paraíba. — América tropical e Antilhas.

M. MALACOCENTRA Mart., "jurema" (uma das várias espécies) ou "avoador" (P.). — Arbusto ereto. Pernambuco, mata sêca e catinga (Tapera, Gravatá, Caruaru, Exu, Surubim). — Ceará, Bahia, Minas, Estado do Rio.

M. PIGRA L. (mais conhecida por *asperata* L.), "calumbí" (com outras espécies). — Arbusto de 1 a 2 m., de ramos compridos; comum em beiras de riachos e em praias baixas, nos arredores de Recife e João Pessoa. — América do Sul tropical e temperada, e África tropical.

M. POLYCEPHALA Bth. — "Rio Prêto *prope* Santa Rita, Pernambuco", GARDNER (Fl. Bras.). Não conheço a espécie nem a localidade.

M. POLYDACTYLA H.B.K. — "Pernambuco", GARDNER (Fl. Bras.). Subarbustinho ereto, de capoeira e margens de caminhos, principalmente perto de habitações, comum nos arredores de Recife e João Pessoa e espalhado no interior de ambos os estados. — América do Sul tropical, para o Sul até Bahia e Minas.

M. AFF. PTERIDIFOLIA Bth. (talvez espécie nova), "jurema". — Árvore pequena de copa larga. Piauí, nas proximidades do limite de Pernambuco: Paulistana (A.L. e M., 52-1 068); Paraíba: Seridó e parte do sertão; chega a cobrir largas extensões em associação pura (L.X.). — *A pteridifolia* está citada para Goiás e Bahia.

M. PUNGENTISSIMA n. sp. — Arbusto trepador, fortemente armado; dá na vista quando com fôlhas novas, côr de rosa. Recife, freqüente na mata das terras altas (Estradas da Aldeia, e Brejo de Macacos).

M. SENSITIVA L., "malicia" (no Ceará: "malicia de mulher"). — Arbusto escandente de caules compridos, freqüente em capoeiras nos arredores de Recife, Tapera (P.) e João Pessoa, de preferência nas proximidades de lugares habitados. — Da hiléia até São Paulo.

M. SEPIARIA Bth., "espinho de Maricá". — "Prov. Pernambuco" (Fl. Bras.). Arbusto grande de ramos compridos, comum em lugares

pantanosos dos arredores de Recife e João Pessoa (onde serve freqüentemente para cercas) e ao que parece em tôda a zona da mata. — Bahia, Minas, Rio.

M. SERICANTHA Bth. — "Santa Rita *et* Serra Batalha prov. Pernambuco", GARDNER (Fl. Bras.). Não conheço a espécie, nem as localidades. — Minas.

M. SOMNIANS H.B.K., "malicia". — Subarbusto ereto ou semiereto. Pernambuco: Tapera e Olinda (P.). — Da América Central ao Norte da Argentina.

M. VERRUCOSA Bth. — Arbusto com lindas flores róseas. Pernambuco: Petrolândia (A.L. 50-537) e Araripe (A.L. e M. 52-1 139). — Maranhão, Piauí e Bahia.

DESMANTHUS Willd. — Pequeno gênero americano que se estende desde o Sul dos Estados Uindos até a Argentina; ausente da Amazônia. O número de espécies varia de 10 a 26, conforme os autores .

D. VIRGATUS (L.) WILLD. — "Pernambuco, frequens" (Fl. Bras.). Freqüente no Estado, em lugares úmidos (A.L.). — América tropical e subtropical.

NEPTUNIA LOUR. — Gênero pantropical que na América se estende ainda às zonas temperadas e do Sul, com 10 a 12 espécies descritas. Ervas e subarbustos com flores amarelas.

N. PLENA (L.). BENTH. — Pernambuco: Tapera, várzea (P. 671, "*N. oleracea* Lour." det. HOEHNE). — Dispersa pela América tropical.

PROSOPIS L. — "Cêrca de 40 espécies, disseminadas na Ásia ocidental, África e América, sendo abundantes nas regiões ocidentais do nosso continente, desde o Sudoeste dos Estados Unidos à Patagônia. A Argentina central e ocidental deve considerar-se o centro do polimorfismo do grupo. A maioria das espécies desempenha um papel importante na vegetação, e, principalmente, os chamados "algarrobos", um papel notável na economia das províncias do interior". Traduzido do espanhol de BURKART, o.c. pág. 127. — Tôdas as espécies dêste gênero são árvores de pouca altura e copa larga, tìpicamente xerófilas.

P. RUSCIFOLIA GRISEB. — Árvore baixa mas de copa muito larga, notável pelos enormes espinhos cujo comprimento pode ir até 30 cm. Freqüente no Chaco argentino e paraguaio; no Brasil, só se conhece um único exemplar, encontrado no interior sêco do Nordeste (Pernambuco: Cachoeira do Roberto, Luetzellburg 49, material estéril; A.L. e M. 52-1 060, material florífero e frutífero). Esta árvore é bem conhecida dos habitantes do lugar que lhe dão o nome "juncumarim" (A. L.); primeiros a trazer dela notícias foram os médicos ARTHUR NEIVA e BELISÁRIO PENNA (Viagem científica pelo Norte da Bahia, Sudoeste de Pernambuco, Sul do Piauí, e de Norte a Sul de Goiás, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, tomo 8, fasc. 3, p. 187 e 188); mais tarde, LUETZELBURG coletou ramos estéreis cuja identificação ficou sujeita à dúvida. A recente aquisição de material completo, pelos botânicos a serviço do Conselho Nacional de Pesquisas, confirmou a identificação.

STRYPHNODENDRON MART. — Gênero relativamente pequeno, próprio da América tropical. As 14 espécies descritas necessitam de uma revisão.

S. PULCHERRIMUM (WILLD.) Hochreuter, "favinha" (A.L.). — Árvore pequena ou mediana da mata sêca das terras altas de Recife, Goiana e João Pessoa. — Da hiléia até o Rio de Janeiro.

PIPTADENIA BTH. — Gênero pantropical, principalmente americano, que inclui cipós possantes e árvores de máximo porte. O centro principal parece estar na parte Sul de sua área geográfica. O número das espécies é avaliado entre 40 e 80, conforme os autores (em cêrca de 50, por BURKART).

P. BIUNCIFERA BTH., "jiquirí", "juquiá" ou "jucurutu" (A.L.); no Ceará: "surucucu". — Árvore pequena, fortemente armada, que floresce no tempo da sêca. Pernambuco: Sertão e sopé da Serra Negra (A.L.); Russinha (P.); Surubim (L.X.). — Piauí, Ceará, Bahia.

P. MACROCARPA BTH., "angico". — Árvore pequena ou mediana que fornece boa madeira e casca para curtume. Pernambuco e Paraíba, mata sêca e catinga em tôdas as zonas dos dois Estados; rara nos arredores de Recife. No herbário PICKEL encontrei-a com os nomes *macrocarpa* (Tapera, P. 675, det. HOEHNE), *peregrina* (Tapera, P. 982 det. PILGER e P. 3 133 det. STANDLEY; Russinha, P. 3 184 det. KILLIP), e *colubrina* (Tapera, P. 2 292 det. KILLIP). — Brasil Central e Nordeste, e Noroeste da Argentina.

P. macrocarpa diverge da *P. peregrina* BTH. ùnicamente pela presença de uma glândula (cedo caduca!) nas anteras da primeira; os frutos variam na sua forma, e seus caracteres não permitem distinguir as espécies com segurança. Resta ainda verificar o valor da presença ou ausência daquela glândula, como caráter diferencial. — Melhor caracterizada, como espécie, é *P. colubrina* VELL. BTH., do Sul tropical, que tem outra forma de inflorescência.

P. MONILIFORNIS BTH., "quipembé" (Pernambuco, A.L.), "carrasco" (Paraíba, L.X.), "catanduva" (principalmente no Ceará). —Árvore pequena. Pernambuco: encosta da Serra Negra (A.L. 49-167); Paraíba: catinga litorânea (L.X.). — Sul do Maranhão e Piauí até Bahia.

P. STIPULACEA (BTH.) DUCKE, = *P. communis var. stipulacea* BTH. — "Prov. Pernambuco", GARDNER 978 (Fl. Bras.). Pernambuco: Caruaru (P. 1940). Pernambuco e Paraíba: tabuleiro de També (M.). — Do Piauí até a Bahia.

P. ZEHNTNERI HARMS, "angico monjolo" (A.L.). — Árvore pequena ou escassamente mediana. Pernambuco: Petrolina (A.L. e M. 52-1 059); encosta da Serra Negra (A.L. 50-728 e 51-923). — Bahia (Zehntner).

P. TRISPERMA (VELL.) BTH., *var.* — "Prov. Pernambuco ad Varedas inter Melancia et Terra Nova" (Fl. Bras.). — *Forma típica da espécie*: Rio e Bahia (Fl. Bras.).

P. SP. (não corresponde a espécies descritas na Fl. Bras.). — Arbusto aculeado. Pernambuco: Inajá (A.L. e M. 52-1 161) e Surubim (L.X.); Paraíba: Campina Grande (L.X.).

PLATHYMENIA BTH. — Gênero provàvelmente monotípico cuja área se estende desde o Estado do Pará ao de São Paulo, e ainda ao Paraguai e o Território Misiones (Argentina).

P. RETICULATA BTH., = *P. foliolosa* BTH e provàvelmente também *P. modesta* (Speg.) Burk., "amarelo" (em Pernambuco); no Sul, conhecida por "vinhático"; na Amazônia por "pau de candeia" (Marajó), "oiteira" (Monte Alegre), ou "paricazinho" (Macapá). — Árvore de porte grande quando em mata primária, porém pequena nas regiões de "cerrado" (Brasil Central) ou "campo alto" (Amazônia). Pernambuco (hoje, pouco freqüente); mata da Usina Mussurepe a cêrca de 30 quilômetros de Recife (D. 2 298); Araripe, A.L. e M. 52-1 104. — Do Estado do Pará até Minas e São Paulo, mas não em tôda parte.

PARKIA P. BR. — Árvores grandes, medianas ou pequenas, quase tôdas ornamentais, distribuídas sôbre os trópicos dos dois hemisférios em mais de 30 espécies; 20 são americanas, e 19 destas ocorrem na hiléia amazônica, sendo 17 limitadas à mesma.

P. PENDULA BTH., "visgueiro". — Uma das árvores de maior porte e sem dúvida a mais ornamental e a mais característica, da mata de Pernambuco ([3]); de aspecto inconfundível pela sua copa verde escuro, larguíssima, em forma de chapéu de sol muito plano sob o qual pendem como fios compridos os numerosos pedúnculos; flores em capítulos vermelho escuro. Freqüente nos remanescentes da mata primária das terras altas dos arredores de Recife, a partir dos morros de Dois Irmãos; vai para o Norte até além de Goiana, mas não passa o limite da Paraíba; no Sul de Pernambuco vi-a em Amaragí e vários pontos ao longo da estrada de ferro. Todos os informantes referem-se ao visgueiro nas matas de Alagoas, e, segundo alguns, o mesmo ocorreria também no Sul da Bahia (falta saber se a espécie botânica é a mesma). — *P. pendula* é comum na hiléia amazônica, principalmente no Pará; falta desde São Luís do Maranhão até inclusive a Paraíba, para reaparecer em Pernambuco (o mesmo sucede com *Coumarouna odorata*).

P. PLATYCEPHALA BTH., "visgueiro". — Árvore de altura quando muito mediana; pedúnculos mais curtos que na precedente; capítulos purpúreos; o aspecto da árvore é o de uma *P. pendula* em ponto menor. Em Pernambuco, até agora só observada na chapada de Araripe (A. L. e M. 52-1 101). — Sul do Maranhão, Piauí e Ceará, Norte da Bahia e médio Rio Tocantins paraense.

([3]): É estranhável que uma árvore florestal tão característica e tão freqüente em Pernambuco não tenha sido citada em nenhum trabalho sôbre êste Estado; não se encontram espécimes no herbário Pickel, nem quaisquer referências na Flora Brasiliensis de Martius que cita a espécie sòmente para a Amazônia.

Subfam. LEGUMINOSAE CAESALPINIOIDEAE

Esta subfamília, cujo elevado número de gêneros é um dos caracteres mais típicos da flora amazônica, é pobremente representada no Nordeste brasileiro. Das espécies registradas para Pernambuco e Paraíba, quase a metade pertence ao gênero *Cassia;* os gêneros amazônicos notáveis pela beleza das flores faltam aqui por completo.

DIMORPHANDRA SCHOTT. — 24 espécies de árvores dos trópicos americanos, de variado porte, na maioria (secção *Pocillum* Tul. tôda) restritas à hiléia; uma só espécie é nordestina.

D. GARDNERIANA TUL., "faveira". — Árvore pequena de cerrados. Pernambuco: freqüente na chapada da Serra Araripe (A.L. 49-165; A. L. e M. 52-1 107). — Maranhão (Sul), Ceará (Crato), Goiás, Bahia.

COPAIFERA L. — Árvores de porte variado, da América e África tropicais; as espécies brasileiras estão em parte mal estudadas, devido à falta de material completo nos herbários; mais de 40 espécies descritas. Tôdas podem fornecer bálsamo (ou óleo) de copaíba, mas o produto das do Nordeste só encontra emprêgo na medicina popular; seu nome regional é "pau d'óleo".

C. LANGSDORFFII DESF. — Árvore baixa mas de copa larga (quando em lugar aberto); arilo da semente purpúreo. Pernambuco: chapada da Serra Araripe (A.L. 49-162, e 49-244; A.L. e M. 52-1 091). Cerrados e mata sêca pouco fechada, desde o Sul do Ceará até o Estado de São Paulo, Mato Grosso e o Território argentino de Misiones. As variedades descritas na Fl. Bras. são, ao menos em parte, espécies diferentes.

C. NITIDA HAYNE, = *C. Langsdorffii var. grandifolia* BTH. (?). — Uma das árvores maiores da mata primária das terras altas de Pernambuco, de tronco cilíndrico robusto e muito alto; freqüente nos arredores de Recife: Dois Irmãos (A.L. 50-741, flor.; D. 2 311, frut.), Gurjaú (D. e A.L. 89, flor.); vista em Mussurepe e Goiana. Nos espécimes pernambucanos, o arilo da semente é côr de laranja, nos do Rio de Janeiro é purpúreo; não vejo outras diferenças. *C. nitida* é árvore da mata pluvial, e de forma alguma pode ser considerada variedade de *Langsdorffii;* ela é no entanto próxima da *C. reticulata* DUCKE (da Amazônia), cujos frutos divergem pelo estipe bastante comprido e o arilo amarelo claro.

HYMENAEA L — Árvores da América tropical, de porte variado, cêrca de 20 espécies descritas; conhecidas pela sua resina, a madeira dura e pesada, a polpa comestível dos frutos. O nome vernacular nordestino de tôdas as espécies é "jatobá". O estudo dêste importante gênero é dificultado pela escassez de material florífero nos herbários (1).

H. COURBARIL L. VAR. OBTUSIFOLIA DUCKE. — Frutos procedentes do sertão de Pernambuco (Serra Araripe, A.L.) correspondem aos des-

(1): As flores das *Hymenaea* abrem à noite, e pétalas e estames caem na manhã seguinte. Não se dá o mesmo com as do vizinho gênero *Peltogyne* que se conservam abertas durante o dia.

ta variedade conhecida do sertão do Ceará e da Bahia. A espécie é variável e largamente distribuída (da América Central e Antilhas até o Nordeste do Brasil).

H. ERIOGYNE BTH. — Pernambuco: Araripe (A.L. e M. 52-1 094). Os espécimes são frutíferos sòmente, porém a forma das inflorescências indica a espécie presente. Os frutos diferem dos da vulgar *H. Martiana* pela superfície mate e de côr pardacenta bastante clara, devido à presença de numerosos lenticelos suberosos. — Bahia.

H. MARTIANA HAYNE. — Árvore grande; flores inteiramente brancas. Pernambuco: bastante freqüente em matas e capoeiras nos arredores altos de Recife (A.L.; P.) e Tapera (P.). Paraíba: zona da mata e do Brejo (L.X.). — Piauí, Goiás, Bahia, Minas; Paraguai.

H. RUBRIFLORA n. sp. — Árvore que mesmo na mata primária não passa de estatura escassamente mediana, florescendo freqüentemente em indivíduos pequenos, arbustivos, na capoeira. Distingue-se de tôdas as outras espécies dêste gênero pelas flores inteiramente vermelhas no interior (só o lado externo das sépalas é pardo). Pernambuco: até agora só encontrada ao redor de Recife: lugar Dois Irmãos (A.L. 49-267 e 49-280), e estrada da Aldeia (D. e A.L. 99).

H. STIGONOCARPA MART. — Árvore baixa de cerrados e catingas. Pernambuco: Serra Araripe (A.L. 49-160). — Do interior do Nordeste e Brasil Central ao Nordeste de São Paulo e Paraguai.

H. n. sp. (frutos pequenos como em *H. parvifolia* HUBER (da Amazônia), mas fôlhas muito diferentes, flores ainda não conhecidas). — Recife, Gurjaú, mata das terras altas argilosas (D. e A.L. 70). Duas árvores vistas.

PELTOGYNE VOG. — Árvores de variado porte, distribuídas pela América do Sul tropical, como o centro na hiléia; cêrca de 20 espécies descritas. A maioria das espécies é notável pela côr do cerne da madeira, o qual, pardo claro ao ser cortado, vira ràpidamente para um belo violáceo, claro ou escuro conforme as espécies botânicas. O nome popular pernambucano é barabu" ("guarabu" ou "roxinho" no Rio de Janeiro).

P. PAUCIFLORA BTH. — Árvore pequena da catinga; madeira purpúreo-violáceo saturado. Pernambuco: Inajá (A.L. 51-595). Corresponde perfeitamente à fotografia do tipo (colecção Field Museum), da Bahia. — *P. gracilipes* DUCKE, do Território do Rio Branco, tem fôlhas, flores, frutos e madeira semelhantes e não passa de sinônimo da espécie presente cuja área geográfica assim se evidencia como dupla, ao Sul e ao Norte do equador.

P. RECIFENSIS n. sp. — Árvore da mata pluvial de terras altas onde atinge porte elevado; não rara em capoeiras, florescendo às vêzes em indíviduos escassamente medianos. Madeira como na espécie precedente. Recife; Estrada da Aldeia (D. e A.L. 12) e Dois Irmãos (A.L. 51-958).

BAUHINIA L. — Segundo gênero das Cesalpinioideas, pelo número das suas espécies distribuídas pelos trópicos dos dois hemisférios (cêrca de 300 descritas). Abundantes em todo o Brasil tropical, com pre-

domínio das eretas no Centro e Nordeste, porém das escandentes na Amazônia onde algumas atingem dimensões enormes e constituem um elemento típico nas grandes florestas pluviais ("escada de jabotí"). O nome popular nordestino mais conhecido é "mororó", o qual, em Pernambuco, é aplicável a tôdas as espécies dêste gênero; no Ceará refere-se às espécies eretas e inermes, enquanto as eretas e aculeadas são conhecidas por "unha de boi" (no Sul: "unha de vaca") e as escandentes por "cipó escada".

B. AÇURUANA MORIC. — Arbúsculo ereto. Pernambuco: Araripe (A.L. e M. 52-1 082) e Inajá (A.L. e M. 52-1 159). — Bahia, Piauí.

B. CHEILANTHA Steud. — Arbusto ereto da catinga e da mata sêca. Pernambuco: Tapera (P. 1 195); Araripe (A.L. e M. 52-1 087). — Piauí, Ceará e Mato Grosso.

B. HETERANDRA Bth. — Arbusto ereto. Pernambuco: — Jatinã, ilha (A.L. e M. 1 148). Paraíba: Patos (V.S., herb. I.A.P. 355). — Piauí, Ceará, Goiás e Bahia.

B. MEMBRANACEA Bth. — Arbúsculo pequeno da submata no lugar Gurjaú perto de Recife (D. e A.L. 107); também de Tapera (P. 221). O tipo de *B. membranacea* é de Goiás, "Serra de Santa Brida", GARNER 3 695 (Fl. Bras.); será preciso compará-lo para identificação definitiva da nossa planta. No Instituto de Botânica de São Paulo há espécimes procedentes da Bahia e de Minas, identificados por HOEHNE.

B. PRUINOSA Vog. — Árvore aculeada de grandes flores alvíssimas, não rara na mata (inclusive capoeiras) das terras altas ao redor de Recife (Estrada da Aldeia, D. e A.L. 83). Corresponde à fotografia do tipo (col. Field Museum). — "Brasilia meridionalis, Sello" (Fl. Bras.).

B. RADDIANA Bong. — Cipó comprido, ornamental quando em flor. Pernambuco: Recife, Estrada da Aldeia, beira da mata (A.L. 52-1 013). — Rio de Janeiro, não rara nas matas do Distrito Federal.

B. RUBIGINOSA Bong. — Cipó grande; muito variável, e, ao que parece, descrito com diversos nomes. "Pernambuco", GARDNER (Fl. Bras.); comum na zona da mata dêste Estado e da Paraíba, inclusive nos arredores de Recife e João Pessoa. — Hiléia, e Centro e Nordeste do Brasil.

B. SUBCLAVATA Bth. (com ligeira dúvida). — Arbusto ereto. Pernambuco: Arcoverde, heb. I.P.A. 4 178. Paraíba: Areia, Alagoa Grande e Cachoeira Guarabira (L.X.). — Piauí.

DIALIUM L. — Árvorees dos trópicos do Velho Mundo, com exceção de uma só espécie que é americana. Cêrca de 30 espécies descritas.

D. GUIANENSE (Aubl.) Sandw. (= *D. divaricatum* Vahl), "pau ferro" (Pernambuco e Paraíba). — Árvore comum da mata das terras altas de Recife e ao que parece de tôda a zona da mata dos dois Estados; de porte alto nas formações primárias; baixinha em capoeiras. — Da América Central até o Espírito Santo (Rio Doce).

APULEIA Mart. — Só duas espécies, árvores da América do Sul tropical e subtropical.

A. LEIOCARPA (Vog.) Macbr. (= *A. praecox* Mart.), "jutaí". — Árvore em geral grande, mas pequena quando em lugar aberto. Pernambuco, mata (A.L. 62-983); També, tabuleiro (D. e A.L. 36). Paraíba: João Pessoa, mata (L.X.). — Do Nordeste e Centro do Brasil ao Nordeste da Argentina.

CASSIA L. — É êste o gênero maior da subfamília, distribuído sôbre os trópicos de ambos os hemisférios, e, na América, ainda representado nas zonas temperadas do Sul e do Norte. Mais de 500 espécies estão descritas. O centro maior da dispersão, no mundo, está situado no Brasil Central e sobretudo em Minas, sendo também o Nordeste sêco bastante rico em espécies. Para Pernambuco já apuramos 34 espécies, número que excede de muito o de qualquer outro gênero de leguminosas e que crescerá quando estiver melhor estudada a flora do sertão dêste Estado. As espécies nordestinas são, na grande maioria árvores pequenas, arbustos eretos ou ervas; poucas chegam ao porte de árvores medianas ou são arbustos escandentes. O gênero *Cassia* é perfeitamente natural, apesar da diversidade do *facies* das espécies, e as tentativas de subdividí-lo só têm favorecido a proliferação de "combinações novas"([5]). Os nomes populares de maior uso em Pernambuco e na Paraíba são os seguintes: "canafistula", para *C. excelsa* (o mesmo nome é ainda dado a *Pithecolobium multiflorum*); "flor de besouro" ou "lavaprato", para *C. Hoffmannseggii* e *C. pudibunda;* "São João", para *C. bicapsularis* (mais usado no Ceará); "mangerioba" ou (no sertão "fedegoso", para *C. occidentalis;* "mata pasto" ou "matapasto liso", para *C. tora;* "matapasto cabeludo" para *C. sericea;* "candieiro preto", para *C. cana;* "coração de negro", para *C. apoucouita*.

C. AÇURUENCIS Bth. — Pernambuco: Najá (A.L. 51-953); Garanhuns (L.X.). — Bahia: Serra Açuruá.

C. ALATA L. — Arbusto ruderal em brejos e margens de riachos na zona da mata, comum sobretudo nos arrdeores de Recife e João Pessoa. — Cosmopolita tropical.

C. ANGULATA Vog. — Um espécime de Pernambuco, Inajá (herb. I. P. A. 1 661), parece pertencer a esta espécie. — Rio, Minas, Mato Grosso.

C. APOUCOUITA Aubl. — "Pernambuco" (Fl. Bras.). Árvore com cerne escuro, pesado e duro; freqüente na mata e em tabuleiros, principalmente nos arredores de Recife e João Pessoa. — Da hiléia até o Rio de Janeiro.

C. APPENDICULATA Vog. — Árvore pequena, ornamental, freqüente nos tabuleiros arenosos dos arredores de Goiana (P. 3 415 e 3 523; D. e A.L. 31) até além do limite da Paraíba. — Rio, São Paulo.

C. BICAPSULARIS L. — Arbusto de capoeiras úmidas e beiras d'água. Pernambuco e Paraíba, nos arredores de Recife e João Pessoa, não fre-

([5]): Pelo sistema de BRITTON e ROSE, *Cassia alata* L. e *C. reticulata* Willd. que se distinguem apenas por uma pequena diferença nos frutos, entrariam em gêneros diferentes!!!

qüente. Comum em jardins no Rio de Janeiro. — América tropical e subtropical meridional.

C. BIFLORA L. VAR. ROSTRATA Bth. — Pernambuco: Tapera (P. 1 067), Gravatá (P. 1 178), Surubim (L.X.). Paraíba: Serraria (L. X.). — Bahia, Minas, Rio. — *Forma típica*: Colômbia, América Central, Antilhas.

C. BRACHYSTACHYA Bth. VAR. UNIJUGA Bth. — Arbusto de restingas arenosas, não raro nos arredores de Recife (Prazeres, Piedade, Pau Sêco etc. "Maceió" (Fl. Bras.). — *Forma típica*: Bahia.

C. CALYCIOIDES DC. — Pernambuco e Paraíba, tabuleiro de També (M.), freqüente. — Goiás, Piauí, Pará; Guiana.

C. CANA Nees et Mart. — Pernambuco: sertão de Rio Branco, Buique (V.S. herb. I.P.A. 443 e 712). — Bahia, Espírito Santo e Minas.

C. CHAMAECRISTA L. Pernambuco: Ibimirim (A.L. 50-535). — América tropical e subtropical; no Brasil, principalmente no Sul.

C. CHRYSOCARPA Desv. — Arbusto escandente. Pernambuco: Tapera (P. 2 485). — Pará, Ceará; Guaiana e Antilhas.

C. EXCELSA Schrad. — "Ad Rio S. Francisco prope Villa Nova prov. Alagoas", GARDNER 1 283 (Fl. Bras.). Árvore pequena, espontânea e culta por todo o Nordeste. Pernambuco: Olinda (P. 227, com o nome "*racemosa* Mill.", identif. Pilger); Tapera (P. 2 639, como "*amazonica* Ducke", ident. Kilip); Pesqueira (A.L. 52-1 032). Paraíba: comum na margem da estrada de João Pessoa para Campina Grande (L.X.). — Ceará, Bahia, Minas e São Paulo.

C. FERRUGINEA Schrad. — Árvore ornamental com flôres amarelo escuro. Pernambuco: Tapera (P. 3 940), Poção (P. 3 521). Paraíba: catinga litorânea (L.X.). — Do Ceará até São Paulo, mas muitas vêzes só cultivada.

C. FLEXUOSA L. — Arbustinho esguio, freqüente em praias dos arredores de Recife e João Pessoa. — América tropical e Antilhas.

C. GRANDIS L. f. — Árvore bastante grande (a de porte maior entre as *Cassia* do Nordeste), com flôres róseo pálido que aparecem depois da queda total da folhagem; freqüente em parques tropicais, inclusive os de Recife. Não tenho dados seguros a respeito de ocorrência espontânea desta espécie em Pernambuco, porém na vizinha Paraíba ela é "comum nas lagoas e depressões da catinga litorânea" (L.X.). — Amazônia (abundante na mata inundável ao longo do Rio Amazonas e do Tocantins) e Maranhão (Barra do Corda); Norte da América tropical e Antilhas.

C. HISPIDULA Vahl. — Subarbustinho rasteiro de lugares abertos, secos. Pernambuco: També, tabuleiro (A.L. 50-748). — América tropical (freqüente em certos "campos" altos da Amazônia).

C. HOFFMANNSEGGII Mart. ex Bth. — Arbusto bastante grande, comum em capoeiras perto de habitações, nos arredores de Recife e João Pessoa. Os espécimes do herbário Pickel (n.º 219, de Olinda; n.º 3 088, de Tapera) foram identificados errôneamente como *C. bacillaris* L. Nordeste do Brasil, Goiás, Amazônia; Guiana.

C. MARTIANA Bth. — Árvore pequena, ornamental, encontrada em mata sêca e catinga. Pernambuco: Poção (P. 3 522), Tapera (P. 4 110), Riacho Sêco (A.L. 51-941). Paraíba: Tabaiana (V.S. herb. I. P.A. 367); Campina Grande, lado do Carirí (L.X.). — Bahia: Joazeiro.

C. OCCIDENTALIS L. — Erva de cêrca de 1 m., ruderal, comum em tôda parte nos dois estados. — Cosmopolita tropical.

C. ORBICULATA Bth. — "Santa Rosa, Pernambuco", Gardiner (Fl. Bras.). Não vista. — Goiás, Minas.

C. PATELLARIA DC. — Erva de meio metro. Pernambuco: Tapera (P. 2 470 e 3 363). — América do Sul tropical e subtropical.

C. PILIFERA Vog. — Pernambuco: Tapera (P. 229). Paraíba: Alagoinha (L.X.). — Do Piauí e Mato Grosso ao Rio Grande do Sul.

C. PUDIBUNDA Mart. ex Bth. — Pernambuco: freqüente por tôda a zona da mata. Paraíba: comum na zona do Brejo (L.X.). — Piauí, Bahia, Minas.

C. QUINQUANGULATA Rich. — Arbusto escandente, freqüente na mata e em capoeiras velhas dos arredores de Recife. — Hiléia tôda, Ceará, Rio de Janeiro.

C. RENIFORMIS G. Don. — Pernambuco: Araripe (A.L. e M. 52-1 136). — Bahia, Minas.

C. ROTUNDIFOLIA Pers. — Erva de pequeno porte. Pernambuco: Olinda (P. 979), Surubim e Bom Jardim (L.X.). — América tropical e Antilhas, dispersa.

C. SERICEA Sw. — Erva bastante alta, do sertão. Pernambuco: Arcoverde (P. 4 194; V.S. herb. I.P.A. 208); Surubim (L.X.). Paraíba: Tabaiana (P. 1 754). — Bahia, Ceará; América Central, Antilhas.

C. SERPENS L. — Erva decumbente de lugares abertos, secos. Paraíba: João Pessoa: tabuleiro arenoso, M. 4 906; estrada de Tambaùzinho (L.X.). — América tropical e subtropical meridional, e Antilhas.

C. SPLENDIDA Vog. — Arbusto pequeno. Pernambuco: Tapera (P. 2 845 e 3 057), Goiana (V.S. herb. I.P.A. 582), Caruaru (P. 1 172). Paraíba: catinga litorânea, lugar Mulungu (L.X.). — Piauí, Ceará, Bahia, Minas, São Paulo.

C. STENOCARPA Vog. — Erva ou subarbustinho, comum em tôda parte nos dois estados. — América do Sul tropical, dispersa.

C. SUPPLEX Mart. ex Bth. — "Angico Alegre, Pernambuco", leg. Martius (Fl. Bras.). Erva prostrada em campos abertos, secos. Paraíba, João Pessoa (M. 4 905). — Rio Grande do Norte (Cruzeta, L.X.), Pará (campos de Monte Alegre), Mato Grosso, Goiás, Bahia.

C. TORA L. — Pernambuco" (Fl. Bras.). Erva ruderal, comum em tôda parte nos dois estados. — América tropical e subtropical.

C. TRACHYPUS Mart. ex Bth. — Pernambuco: Araripe (A.L. e M. 52-1 081). — Piauí, Ceará, Minas, São Paulo.

C. UNIFLORA Spreng. — Arbustinho multirramoso, característico para restingas marítimas e ainda encontrado em tabuleiros. Comum nos arredores de Recife e João Pessoa; forrageira (L.X.). — América do Sul tropical, mas não em tôda parte (falta no interior da Amazônia).

C. SP. ? — Pernambuco: Gravatá (P. 1 177), espécime incompleto. Está no herbário Pickel como *C. glandulosa* L., porém não corresponde à descrição desta, na Flora Brasiliensis.

KRAMERIA Loef. — Alguns autores atribuem êste gênero à família *Polygalaceae,* por seu aspecto muito diferente do das outras leguminosas. Ervas e semiarbustos xerófilos da América tropical e temperada (mais de 20 espécies descritas). Fornecem, em diversos países americanos, a "ratanha", droga adstringente, usada principalmente na medicina.

K. TOMENTOSA St. Hil., "carrapicho" (como outras plantas cujos frutos aderem fàcilmente à roupa). — Semiarbusto de lugares abertos e secos. Pernambuco e Paraíba: tabuleiro de També (P. 1 734, como *K. argentea,* determ. Harms; A.L. 50-745; D. e A.L. 54). — Centro e Nordeste do Brasil, Amazônia (campos altos de Monte Alegre e do Rio Branco); Guiana, Perú, Bolívia.

PARKINSONIA L. — Árvores tìpicamente xerófilas, pequenas, aculeadas, com folíolos mínimos e flôres amarelas. Duas espécies descritas, uma das quais americana, a outra sulafricana.

P. ACULEATA L., "turco" (no Ceará, ainda "cedro"). — Esta espécie é comum em todo o Nordeste, principalmente no sertão onde talvez seja nativa. Os exemplares que existem em Recife, João Pessoa e em tôda a zona da mata dos dois estados, são cultivados. — América tropical e subtropical, comum em regiões sêcas porém em geral sòmente subespontânea; segundo BURKART, provàvelmente nativa em duas áreas separadas: México e o Noroeste da Argentina.

CAESALPINIA L. — Numerosas (100 a 150) espécies nas regiões tropicais e subtropicais dos dois hemisférios, na maioria habitantes de matas sêcas; na América do Sul, o centro da sua distribuição acha-se no Norte da Argentina e Centro e Nordeste do Brasil, enquanto nenhuma espécie se encontra na mata pluvial equatorial. *Facies* e porte variam muito, conforme as espécies, mas, apesar disso, o gênero é bastante homogêneo e não se justifica sua subdivisão em gêneros menores.

C. BONDUCELLA (L.) Roxb., "carnica". — Cipó aculeado, comum na beiramar de ambos os estados. — Cosmopolita tropical.

C. AFF. CALYCINA Bth. (ou espécie nova?). — Pernambuco: Jatinã, ilha (A.L. e M. 52-1 146). — A espécie foi descrita da Bahia.

C. ECHINATA Lam., "pau Brasil". — Árvore pequena, aculeada, cuja madeira, pardo amarelento claro ao cortar, vira depois para o vermelho. Mata sêca. Pernambuco: Tapera, mata (P. 225). Paraíba: Mamanguape, mata de Camaratuba (L.X.), talvez o limite Norte da área da espécie. As árvores que deviam abundar antes da grande exportação

do seu lenho tintorial, são hoje raras. — Da Paraíba ao Rio de Janeiro (morros da Lagoa Rodrigo de Freitas, J. G. Kuhlmann).

C. FERREA Mart. ex Tul. (= *C. ferrea* Bth. ex parte, = *C. ferrea var. cearensis* Huber), "jucá" ou, raramente, "pau ferro". — Árvore pequena ou mais raramente mediana, comum na zona da catinga (Agreste e Sertão) de Pernambuco e da Paraíba, mas de espontaneidade duvidosa nas outras zonas onde ela no entanto é freqüentemente cultivada por causa dos frutos usados na medicina popular. Vi-a em estado indubitàvelmente espontâneo em Fazenda Nova, no Agreste de Pernambuco. É freqüentemente cultivada na Amazônia brasileira, onde ela foi introduzida pelos imigrantes nordestinos. Há vários pés cultivados no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, em cujo herbário encontrei os espécimes 7 615 e 10 932 aí coletados. — Espontânea e comum no sertão, desde o Ceará até a Bahia.

O tipo desta espécie é Gardner 1 277, de Alagoas (Rio São Francisco); MARTIUS deu-lhe apenas o nome (cf. Tulasne, Arch. Mus. Paris 4 : 137). Pela longa e detalhada descrição de Tulasne torna-se evidente que êsse tipo corresponde ao "jucá" (algumas vêzes chamado também "pau ferro"), e não ao "pau ferro" da mata do Rio de Janeiro e das serras do Nordeste, nunca chamado "jucá". O porte pequeno ou escassamente mediano da árvore cujo tronco é sempre baixo e nunca bem direito, o número menor das pinas (vulgo 2 ou 3, mais raramente 4) e dos folíolos (vulgo 4 a 6 pares) e as dimensões maiores dêstes, e a pubescência dos pecíolos, do lado inferior dos folíolos e sobretudo das inflorescências, distinguem esta espécie da *leiostachya;* além disso, a casca do tronco nunca tem as bonitas cores que ostenta a última, e o fruto costuma ser curvado quando o da outra é direito.

Não vi as variedades *petiolulata* Tul. e *megaphylla* Tul., do Piauí e da Bahia. Das variedades descritas por BENTHAM, nenhuma pertence à espécie *ferrea*.

C. MICROPHYLLA Mart. ex Tul., "catingueira rasteira" (A.L.). — Pernambuco (sertão): Petrolândia (A.L. 50-541). — Bahia.

C. LEIOSTACHYA (Bth.) Ducke (= *C. ferrea var. leiostachya* Bth.), "pau ferro". — Árvore grande (até 30 m.), de tronco direito, cilíndrico, alto e robusto e com casca lisa, com grandes manchas brancas sôbre fundo escuro; número de pinas e folíolos maior que em *ferrea,* folíolos menores que nesta e glabros ou escassamente revestidos; inflorescências glabras; frutos em geral maiores e direitos. Pernambuco: existe cultivada em Recife, e vi uma árvore espontânea na mata serrana de Garanhuns, além de um espécime botânico completo (Buique, V.S. herb. I.P.A. 708); Paraíba (L.X.). — Espontânea no Rio de Janeiro e cultivada em parques, em várias cidades do Brasil.

C. PYRAMIDALIS Tul. (inclusive *C. Gardneriana* Bth. que não difere especìficamente), "catingueira", "catinga de porco". — Árvore pequena, uma das mais comuns de tôda a zona da catinga; falta na mata úmida. Material examinado, todo de Pernambuco: Caruaru (P. 2 498, *"C. pyramidalis var."* det. Pilger); Caruaru (P. 2 831, *"C. la-*

xiflora Tul." det. Standley); Gravatá (P. 224, "*C. Gardneriana*" det. Hoehne). Paraíba: catinga litorânea e sertão (L.X.). — Do Piauí à Bahia.

PELTOPHORUM (Vog.) Bth. — Pequeno gênero tropical (6 espécies ?), representado em ambos os hemisférios. Árvores grandes de flores amarelas.

P. DUBIUM (Spreng.) Taub. (mais conhecido por *P. Vogelianum* Bth.), "favinha". — "Pernambuco et Alagoas" (Fl. Bras.). Pernambuco, no Agreste: Caruaru (P. 1 758), Pesqueira (A.L. 51-894). — Paraíba: Campina Grande e Areia, mata (L.X.). — Do Nordeste brasileiro até o Norte da Argentina.

CENOSTIGMA Tul. — 3 ou 4 espécies, distribuidas sôbre o Centro e Nordeste do Brasil, Paraguai e o Tocantins paraense. Árvores pequenas de flôres amarelas.

C. MACROPHYLLUM Tul. — "Pernambuco, Serra da Batalha", Gardner (Fl. Bras.). Nada me consta a respeito de coleções recentes, neste estado. — Piauí, Goiás e Minas.

POEPPIGIA Presl. — Gênero monotípico da América tropical.

P. PROCERA Presl. VAR. CONFERTA Bth. — Árvore pequena. Pernambuco: Airí, catinga (A.L. 50-583). — Estado do Rio, Bahia, Piauí (Fl. Bras.). — A *forma típica* da espécie é árvore grande, de Minas Gerais (Fl. Bras.), Colômbia (BRITTON and KILLIP), América Central, México e Cuba (localidade típica).

SCLEROLOBIUM Vog. — Árvores de variado porte, da América do Sul tropical (da Venezuela até São Paulo e o Norte do Paraguai), com o centro de dispersão na hiléia. Cêrca de 25 espécies estão descritas.

S. DENSIFLORUM Bth., "ingá porco" (Pernambuco), "ingá cavalo" (Paraíba). — Árvore grande da mata primária, de copa ampla; parece-se com os ingás verdadeiros, quando muito, na folhagem. Pernambuco: Recife: Dois Irmãos (A.L. 50-490) e Estrada da Aldeia, mata da Usina Mussurepe (A.L. 49-362); comum nos arredores de Goiana. Paraíba: João Pessoa (L.X.). — Bahia.

SWARTZIA Schereb. — Gênero tropical composto de numerosas espécies (cêrca de 150 descritas), quase tôdas na América, poucas na África, uma só em Madagascar; o centro de distribuição está na hiléia (54 espécies registradas para a Amazônia brasileira). As poucas espécies nordestinas são árvores pequenas ou escassamente medianas.

S. ALTERNA Bth. — Árvore pequena ou arbusto da mata de terras altas, não rara nos arredores de Recife: Dois Irmãos (D. 2 116; A.L. 49-369) e estrada da Aldeia (A.L. 52-1007). Tôdas as partes da planta exalam um odor forte e desagradável que lembra um pouco o das raizes das *Derris* ictiotóxicas da Amazônia. — Manaus e Guiana britânica.

S. APETALA Raddi. — "Maceió", Gardner 1 410 (Fl. Bras.). Não vista. — Rio e Bahia; *var. acuminata* Amsh. na Guiana holandesa.

S. MOLLIS Bth. — Arbusto da catinga. Pernambuco: Inajá (A. L. 50-700), Araripe (A.L. e M. 52-1 075), Maniçobal (A.L. e M. 52-1 050). — Ceará, Bahia.

S. PICKELII Killip ex Ducke, "jacarandá branco". — Árvore pequena na mata, arbúsculo ou arbusto em capoeiras. Pernambuco: comum em certos lugares dos arredores de Recife (entre Dois Irmãos e Macacos, D. 2 262; V.S. herb. I.P.A. 199); Tapera (P. 2 394). Paraíba: João Pessoa, estrada de Cabedelo, mata de porte baixo, D. 2 315.

S. PSILONEMA Harms, "banhenta" (A.L.). — Árvore pequena; fruto volumoso; arilo das sementes polposo, com aspecto de gordura. Pernambuco: Araripe (A.L. e M. 52-1 088). — Do Leste e Sueste do Pará até o interior da Bahia; no Pará, Maranhão e Ceará conhecida por "jacarandá branco".

ZOLLERNIA Mart. — 7 ou 8 espécies, tôdas brasileiras exceto uma que foi encontrada numa região serrana (Kanuku Mountains) do Sul da Guiana britânica.

Z. ILICIFOLIA Vog., "pau santo". — Pernambuco: Russinha (P. 3 392); Surubim (L.X.). Paraíba: Tabaiana (P. 1 551). — Rio, Minas, Santa Catarina.

Z. LATIFOLIA Bth. — "Maceió", Gardner (Fl. Bras.). Não vista.

Z. PARAENSIS Huber, "pau santo". Árvore bastante grande; cerne da madeira escuro (muitas vêzes quase prêto), muito pesado. Mata sêca. Pernambuco: Goiana (A.L. 52-984, D. e A.L. 60); Paraíba: estrada de João Pessoa a Goiana (D. 2 284). Leste e sueste do Pará e Noroeste do Maranhão.

Subfam. LEGUMINOSAE PAPILIONOIDEAE

Tribo *Sophoreae*

Esta tribo bastante heterogênea é constituída por pequenos grupos de gêneros que formam um laço de união entre as Cesalpinioideas e as Papilionoideas da tribu das Dalbergies. É essencialmente tropical, rica em gêneros e espécies na mata pluvial amazônica, pobre no Nordeste brasileiro.

BOWDICHIA H.B.K. — 3 espécies, tôdas da América do Sul tropical. Fornecem madeira boa.

B. VIRGILIOIDES H.B.K., "sucupira" ou "sucupira mirim". — Árvore pequena ou apenas mediana, freqüente em tôdas as terras altas da zona da mata, em formações primárias e sobretudo secundárias, e ainda encontradas em restingas do litoral e tabuleiros. Comum nos arredores de Recife e João Pessoa, onde, no comêço do verão, suas copas cobertas de flôres violáceas lembram as belas leguminosas amazônicas. — Do Estado do Rio e de Mato Grosso até a Venezuela; na hiléia, estrìtamente limitada a campos naturais (savanas).

DIPLOTROPIS Bth. — Gênero pouco diferente do precedente. 4 espécies, tôdas da América do Sul tropical. Fornecem madeira boa.

D. PURPUREA (Rich.) Amsh. VAR. BRASILIENSIS (Tul.) Amsh., "sucupira açu". — Árvore bastante grande, freqüente nos remanescentes da mata primária dos arredores de Recife (D. e A.L. 24 e 28), Goiana (D. e A.L. 35) e João Pessoa (L.X.). — Amazônia. A forma típica da espécie é própria da Guiana; outras variedades ocorrem na Amazônia inclusive o Norte de Mato Grosso.

ORMOSIA Jacks. — Gênero de árvores tropicais, representado por espécies bastante numerosas na América, por poucas na Ásia; cêrca de 45 estão descritas. O centro da dispersão da América é a hiléia (16 espécies na Amazônia brasileira). As sementes de tôdas as espécies são duras e de côr viva; as da maioria são vermelhas, comumente com uma mancha preto. ("tento", na Amazônia onde freqüentemente servem para marcar jôgo).

O SP., provàvelmente *O. nitida* Vog., "sucupira baraquim" (A.L.). — Árvore mediana ou bastante grande; sementes vermelhas unicolores, brilhantes. Pernambuco: em poucos exemplares, na mata das terras altas dos arredores de Recife: Gurjau (D. e A.L. 106); Usina Tiuma (A.L. 52-997). — *O. nitida* é do Espírito Santo; descrita em estado frutífero, sem flôres.

TORRESEA F. All. (= *Amburana* Schwcke et Taubert (6). — Duas espécies, das quais uma (*T. acreana* Ducke) pode também ser considerada variedade geográfica da espécie típica. Árvores de madeira boa e que em tôdas as suas partes rescendem a cumarina; restritas ao interior da América do Sul, desde o Território do Acre até o Paraguai e o Noroeste argentino.

T. CEARENSIS F. All., "imburana de cheiro" ou "cumaru de cheiro". — Árvore em geral pequena. Sertão de Pernambuco (Petrolândia, A. L. 50-538) e da Paraíba (L.X.). — Do Ceará até o Noroeste da Argentina.

PTEROGYNE Tul.(7). — Gênero monotípico da América do Sul, habitante de regiões sêcas desde o Nordeste do Brasil até o Norte da Argentina (Corrientes etc.).

P. NITENS Tul., "madeira nova". — Árvore pequena ou escassamente mediana, fornecedora de boa madeira. Pernambuco: Serra Talhada (A.L.) Freqüente no Sul do Ceará (Crato).

MYROXYLON L. f. — A maioria dos autores distingue duas espécies, porém com muita probabilidade o gênero virá a ser considerado monotípico. Falta comparar sementes procedentes de muitas partes da sua extensa área geográfica. Árvores de porte grande, aromáticas;

---

(6): Na opinião de alguns autores, *Torresea* teria de ceder o lugar a *Amburana*, porque já anteriormente existia um nome *Torresia*, sinônimo de um outro gênero. Há, no entanto, na nomenclatura botânica, outros nomes que divergem numa só letra mas são aceitos como válidos (por ex. *Cistus* e *Costus*).

(7): BENTHAM e outros autores antigos colocam êste gênero nas Cesalpinioides perto de *Copaifera*.

a área abrange o continente americano, do México ao Norte da Argentina, com exclusão da maior parte da Amazônia.

M. PERUIFERUM L. f., "bálsamo". — Seguindo a maioria dos autores, conservo provisòriamente esta espécie embora concorde com RECORD (ver "Timbers of the New World") quando julga o gênero como provàvelmente monotípico (o nome da espécie seria nesse caso *M. balsamum*) (L.) Harms). — Árvore grande de madeira ótima; no Brasil, ao que parece, limitada a matas serranas. Pernambuco: estrada de Caetés e Garanhuns (A.L. 50-713). — América tropical, com excepção da faixa equatorial.

SOPHORA L. — Arbustos dos trópicos e de vários países temperados do Novo e do Velho Mundo. Cêrca de 25 espécies estão descritas.

S. TOMENTOSA L. — Arbusto pequeno das praias de Pernambuco e Paraíba. — Cosmopolita tropical de beiramar, porém no Brasil até agora não observado ao Norte da Paraíba.

Leg. Pap., tribo DALBERGIEAE

Esta tribo liga-se de um lado a certos grupos de gêneros da tribo *Sophoreae* e do outro lado aos gêneros arbóreos da tribo *Galegeae*. Rica em gêneros e espécies na hiléia amazônica e nas partes tropicais do Sul do Brasil e Norte da Argentina; relativamente pobre no Nordeste brasileiro.

DALBERGIA L. f. — Numerosas espécies (180 segundo AMSHOFF, 120 segundo HOEHNE) nos trópicos do Velho e do Novo Mundo, muitas no Sueste brasileiro. Árvores, ou arbustos escandentes; algumas espécies são notáveis pela excelente madeira.

D. CEARENSIS Ducke, "violete" (8). — Árvore pequena cujos ramos superiores mostram tendência para forma sub-escandente; fornece a famosa madeira de ebenistaria, conhecida nos Estados Unidos por "Brazilian Kingwood" (Record, o.c.). Pernambuco (sertão): catinga entre Ibimirim e Serra Negra (A.L. 50-534, 50-714, 50-725). — Ceará.

D. cearensis foi por alguns autores reunida à comum *D. variabilis* Vog., com a qual se parece muito nos herbários, mas não nas plantas vivas. *D. variabilis* é um arbusto escandente que pode trepar em árvores altas e que em parte alguma da sua vasta área (do Sudoeste da Amazônia até o Rio Grande do Sul e o Norte da Argentina) fornece madeira. À mesma *D. variabilis* atribui-se ainda a origem do "Brazilian Tulipwood" da Bahia, porém o material de herbário estudado por STANDLEY (col. D. G. DE ALMEIDA, Serviço Florestal) veio duma árvore (não d'um cipó!) e foi identificado como *D. variabilis var. tomentosa* Bth. Novas e completas coleções em número maior de localidades através da extensa área geográfica destas plantas serão nceessárias para completar o estudo dêste complexo.

---

(8): Encontrei êste nome aplicado ainda a outras Dalbergieas, como p. ex. *Machaerium acutifolium* Vog. (no Maranhão e Ceará) e *Platymiscium sp.* (no Ceará)

D. HECASTOPHYLLUM (L.). Taub. — Arbusto sub-escandente de praias à beira de mangues, comum nas vizinhanças de Recife e João Pessoa. — América e África tropicais, e Antilhas.

MACHAERIUM Pers. — Gênero aproximadamente tão rico em espécies quanto o precedente, porém limitado à América tropical (HOEHNE conseguiu "apurar 121 que devem ser válidas" (Flora Brasilica). O centro maior parece ser o Sudoeste brasileiro. Árvores, algumas com madeira escura, ou arbusto escandentes; na Amazônia predominam os últimos.

M. ACULEATUM Raddi (= *angustifolium* Vog. = *isadelphum* (E. Mey.) Amsh.). — "Prope Pernambuco" (Recife, provàvelmente), Gardner (Fl. Bras.). — Árvore pequena com estípulas espinescentes, freqüente em antigas plantações e sítios abandonados nos arredores de Recife e João Pessoa; também em Tapera (P. 1 171). Ocorre ainda numa forma escandente que também pode ser outra espécie (Recife, estrada da Aldeia, A.L. 50-633). — De Panamá ao Norte da Argentina. — Segundo alguns autores, haveria duas espécies, *aculeatum* e *angustifolium*, o que só poderá ser decidido por estudo de material mais abundante e de procedência diversa.

M. MUCRONULATUM Mart. ex Bth. — "Pernambuco" (Fl. Bras.). — Minas (Fl. Bras.). Não conheço esta espécie.

M. VIRIDIPETALUM n. sp. — Arbusto escandente, não raro nos arredores de Recife, em mata e capoeira de terras altas (Estrada da Aldeia, A.L. 50-625, 51-946). Tapera (P. 2 424, como *"Diplotropis ferruginea* Benth.", determ. Killip).

M. SP ?, só frutífero e por enquanto não identificável. — Recife, Estrada da Aldeia, capoeira em lugar alto (D. e A.L. 98).

PTEROCARPUS L. — Espécies bastante numerosas (cêrca de 65 segundo AMSHOFF), tropicais, nos dois hemisférios; no Brasil, poucas. Árvores.

P. VIOLACEUS Vog., "pau sangue". — Árvore com flôres amarelas com mancha violácea. Pernambuco e Paraíba, principalmente em mata sêca; freqüente ao redor de Recife, Tapera e João Pessoa. — Bahia, Rio.

PLATYMISCIUM Vog. — Estão descritas mais de 20 espécies, porém êste número terá de ser reduzido. Árvores da América tropical, de variado porte, tôdas com vistosas flôres amarelas (na árvore desfolhada), algumas com ótima madeira ("macacaúba" do Pará e Amazonas). A classificação das espécies é difícil, porque o material dos herbários é quase sempre incompleto.

P. FLORIBUNDUM Vog. — Freqüente em ambos os estados, da zona da mata ao sertão, sobretudo em margens de rios. — Ceará (?), Rio de Janeiro. — *P. Blancheti* Bth., descrito da Bahia, será provàvelmente a mesma espécie.

HYMENOLOBIUM Bth. — 13 espécies distribuidas desde a Guiana até o Rio de Janeiro, 10 das quais na Amazônia onde algumas contam

entre as árvores mais altas. Madeira dura; flôres, conforme as espécies, violáceo claro até róseo pálido.

H. ALAGOANUM Ducke. — Arbusto de poucos metros. Pernambuco e Paraíba: També, tabuleiro (A.L. 50-763, D. e A.L. 47). Alagoas: Maceió, Gardner 1 275 (Fl. Bras.).

H. MODESTUM Ducke, forma, ou espécie nova (faltam flôres). Pernambuco: Goiana, mata da Usina Santa Tereza (D. e A.L. 65). — As fôlhas destas e das demais espécies de porte grande caem antes do princípio da floração, e as novas só nascem depois da queda dos frutos.

DERRIS Lour. — De acôrdo com MACBRIDE (Flora of Peru, Leguminosae), reuno os gêneros *Derris* e *Lonchocarpus*, entre os quais ninguém ainda pôde traçar um limite, num gênero único sob o nome do primeiro. Numerosas espécies nos trópicos de ambos os hemisférios, cêrca de 250 descritas. Árvores em geral pequenas ou arbustos escandentes de variado porte; flôres violáceas, vermelhas, róseas ou brancas. As três plantas ictiotóxicas de maior uso pertencem a êste gênero. As espécies pernambucanas são árvores pequenas.

D. GUILLEMINIANA (Tul.) Macbride (= *Lonchocarpus neuroscapha* Bth.). — Pernambuco: Paulista (A.L. 52-987). — Rio, Espírito Santo, Bahia, Minas (Fl. Bras.), e Sudoeste da Amazônia; em várias formas mal conhecidas.

D. SERICEA (H.B.K.). — "Rio São Francisco, Alagoas", Gardner 1 275 (Fl. Bras.). Pernambuco: mata sêca (Tapera, P. 233, 2 852 e 3 970, com o nome de *Lonchocarpus neuroscapha*) e sertão (Custodia, A.L. 49-151). Paraíba: Patos, Alagoas do Monteiro (L.X.). No sertão onde falta o gênero *Inga*, esta árvore é conhecida por "ingazeiro". — América tropical e Antilhas, África ocidental tropical; em várias formas mal estudadas que em parte talvez sejam espécies próprias.

D. SP. ?, material frutífero, por enquanto não identificável. — Pernambuco: Inajá, encosta da Serra Negra (A.L. 50-730, 50-732).

GEOFFROEA Jacqu. — 3 espécies sulamericanas, desde Venezuela e Colômbia à Argentina (Burkart o.c.). — Árvores pequenas ou arbustos; flôres alaranjadas.

G. STRIATA (Willd.) Mor. (mais conhecida como *G. superba* H.B.K.), "marí". — Comum no sertão de todo o Nordeste onde parece ser espontânea, enquanto os exemplares encontrados no zona da mata são cultivados ou, quando muito, sub-espontâneo. As sementes são comestíveis (assadas). — Do Norte da Argentina até a República do Equador (Burkart o.c.); no Brasil, sòmente no Nordeste.

ANDIRA Lam. — Árvores tropicais, na maioria americanas, poucas na África; no Brasil, mais numerosas no Sueste e Centro. Cêrca de 30 espécies estão descritas. As espécies nordestinas são de difícil classificação, devido à insuficiência das descrições na Flora Brasiliensis; o nome vernáculo de tôdas é "angelim"; as flores são violáceas, vistosas.

A. FRAXINIFOLIA Bth. — Árvore pequena ou mediana da mata secundária das terras altas. Pernambuco, arredores de Recife: Muribeca

(P. 3 308); Dois Irmãos (A.L. 48-126). Paraíba: estrada de Goiana a João Pessoa (D.); Areia (L.X.). — São Paulo, Rio, Minas.

A. FRONDOSA Bth. ? — Espécie insuficientemente conhecida cuja descrição, na Flora Brasiliensis, se baseia num espécime único. Recife: Dois Irmãos, árvore mediana da mata em lugar alto (A.L. 51-944); diverge da descrição pelas bractéolas pequenas e caducas. Plantas novas foram vistas ao longo da estrada para Aldeia. — Estado do Rio: restinga de Cabo Frio.

A. LAURIFOLIA Bth. — "In provincia Pernambuco frequens in planitie alta quales Chapada dicunt, districto Rio Preto", Gardner 2 816 (Fl. Bras.). Arbúsculo pequeno (abaixo de meio metro), muito ornamental quando em flor. Pernambuco e Paraíba: tabuleiro de També, abundante nalguns pontos (P. 3 406, D. e A.L. 39); Paraíba: Tabuleiro de Santa Rita, perto de João Pessoa (L.X.). Concorda com MELLO BARRETO 5 941, do cerrado de Lagoa Santa. — Minas. — *A. humilis* Mart. ex Bth., igualmente do cerrado de Minas, será possìvelmente uma mera forma da presente.

A NITIDA Mart. ex Bth. — Árvore pequena, freqüente nas restingas do litoral. Pernambuco: arredores de Recife (Olinda, P. 848; Cassote, A.L. 49313). Paraíba: João Pessoa e Mamanguape, mata do litoral e praias altas (L.X.). — Espírito Santo.

COUMAROUNA Aubl. (= *Dipteryx* Schreb. em parte). — 13 espécies: 8 na hiléia e na Venezuela, 1 na hiléia e no Nordeste do Brasil, 1 no Nordeste, 1 no Brasil Central e Norte do Paraguai, e 2 na América Central. Árvores de variado porte, de madeira muito dura; algumas, muito ornamentais quando cobertas de flôres; outras, com sementes perfumadas ou comestíveis.

C. ODORATA Aubl., "cumaru". — Árvore grande da mata pluvial de lugares altos, não muito rara nos arredores de Recife (Dois Irmãos, A.L. 50-740) e Goiana (vista). Flôres côr-de-rosa com lilás e branco, fragrantíssimas; sementes largamente exportadas da Amazônia, para extração da cumarina. — Comum no centro e leste da hiléia; falta desde São Luís do Maranhão até inclusive a Paraíba, para reaparecer em Pernambuco (o mesmo sucede com *Parkia pendula*).

Leg. Pap., tribo *Galegeae*

Esta vasta tribo cujos limites com as outras tribos das Papilionídeas não podem ser exatamente definidos, consiste principalmente em arbustos e subarbustos de climas temperados, sendo, por isso fracamente representada no Brasil tropical.

POECILANTHE Bth. — Árvores pequenas da América do Sul tropical, cujo aspecto lembra a tribo *Dalbergieae*, da qual no entanto diferem pelo legume lenhoso, bivalvado e elàsticamente deiscente. Seis espécies estão descritas.

P. FALCATA (Vell.) Ducke (= *grandiflora* Bth.), "chorão" (Paraíba). — Vi sòmente espécimes frutíferos. Pernambuco: município de

Pesqueira (A.L.). Paraíba: margem do Rio Paraíba, Fazenda Limão, Monteiro (L.X.). — Minas e Estado do Rio.

SESBANIA Scop. — Ervas altas ou arbustos; mais de 20 espécies válidas (Burkart o.c.), distribuidas sôbre os trópicos e subtrópicos de ambos os hemisférios. Uma só espécie é nativa no Brasil tropical, porém uma outra (*S. aegyptiaca* Pers.) é freqüentemente encontrada no Nordeste, em cultura e sub-espontânea.

S. EXASPERATA H.B.K. — Erva alta com flôres de um amarelo saturado, freqüente em pântanos e margens pantanosas de rios, em lugares abertos ao sol. "Prope Pernambuco", Gardner (Fl. Bras.). Arredores de Recife e João Pessoa, e provàvelmente em tôda a zona da mata. — América tropical e subtropical meridional, e Antilhas.

HARPALYCE Moc. et Sessé ex DC. — Arbustos da América tropical inclusive Cuba; poucas espécies.

H. BRASILIANA Bth. — Arbusto de flôres violáceo-róseas, característico para a flora dos campos, tabuleiros e chapadas do Brasil central e Nordeste. Pernambuco e Paraíba: freqüente nos tabuleiros altos e arenosos de També e Pedra de Fogo (A.L., D., P., V.S.) — De Piauí e Ceará até Minas e Mato Grosso.

TEPHROSIA Pers. — Numerosas espécies nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sobretudo na África e Austrália; cêrca de 200 descritas (AMSHOFF). Arbustos pequenos ou ervas; muitas espécies são venenosas.

T. ADUNCA Bth. — Erva de "campo" (savanas), cerrados e tabuleiros. Paraíba: tabuleiros entre João Pessoa e Goiana (A.L. 52-1 178). — América do Sul tropical e subtropical.

T. CINEREA Pers. — Erva rasteira da areia do litoral, freqüente nos arredores de Recife e João Pessoa. — América tropical e Antilhas, e Argentina subtropical.

INDIGOFERA L. — Um dos maiores gêneros entre as Leguminosas, habitante dos trópicos e subtrópicos de ambos os hemisférios. principalmente da África. Ervas e arbustinhos. O número das espécies está avaliado em mais de 200 por BURKART, em cêrca de 500 por AMSHOFF.

I. ANIL L., "anil". — Comum em terrenos abandonados, abertos, e em beiras de estradas, por todo o Nordeste brasileiro e tôda a América tropical e subtropical.

I. ASPERIFOLIA Bong. — Pernambuco: Tapera (P. 4 219). — América tropical e subtropical meridional.

I. CAMPESTRIS Bong. — Pernambuco: Recife, freqüente na praia de Boa Viagem (A.L.). — América tropical e subtropical meridional.

I. MICROCARPA Desv. — "Pernambuco", Gardner 974 (Fl. Bras.); freqüente em praias de Recife e Olinda. — Bahia; Venezuela, Antilhas.

I. PASCUORUM Bth. — Pernambuco: Olinda e Tapera, pastos e ruas (P.). — Território do Rio Branco; América Central, Guiana.

Leg. Pap., tribo *Phaseoleae*

Tribo tropical e subtropical, importante pelo número de gêneros e espécies e mais ainda pela utilidade de muitas; na maioria, plantas volúveis. O Brasil tropical todo é rico de representantes desta tribo, parecendo ser Minas o centro maior da sua distribuição geográfica.

CLITORIA L. — De 30 a 40 espécies (Burkart, Amshoff) nos trópicos e subtrópicos de ambos os hemisférios. Ervas e arbustos eretos ou volúveis; algumas espécies arbóreas na Amazônia. Flôres róseas, brancas ou violáceas.

C. CAJANIFOLIA (Presl.) Bth. — Erva ereta de lugares abertos, secos. "Pernambuco" (Fl. Bras.); não rara no litoral de Recife e nos tabuleiros de Goiana. — América do Sul tropical e Antilhas .— No Rio Negro (Amazonas), às vêzes cultivada como planta ictiotóxica.

C. RUBIGINOSA Juss. (= *glycinoides* DC.). — Erva volúvel de capoeiras e beiras de mangue, freqüente nos arredores de Recife. — América tropical e meridional subtropical e Antilhas.

C. SIMPLICIFOLIA (H.B.K.) Bth. — "Santa Rosa, prov. Pernambuco", Gardner 2 822 (Fl. Bras.). Erva ereta dos "campos" altos do Pará: dispersa desde Venezuela (Orinoco) até Goiás e Mato Grosso.

CENTROSEMA DC. — Numerosas espécies (cêrca de 40 segundo AMSHOFF, 35 segundo BURKART), tôdas americanas e principalmente do Sul. As do Nordeste são ervas volúveis, com flôres violáceas ou em parte brancas.

C. BRASILIANUM (L.) Bth. — Uma das leguminosas mais comuns das capoeiras e beiras de caminhos em ambos os estados; ocorre em várias formas. — América tropical e subtropical meridional, e Antilhas.

C. HASTATUM Bth. — Pernambuco: Tapera (P. 2 146, 2 739, 2 740). — Bahia, Minas e São Paulo; Colômbia e América Central.

C. MACROCARPUM Bth. — Pernambuco: Tapera (P. 2 748, 2 794; V.S. herb. I.P.A. 497; P. 2 794 sob o nome *C. prehensile* Ducke). — Guiana, Peru e Colômbia.

C. PASCUORUM Mart. ex Bth. — Pernambuco: Tapera (P. 2 417, 2 721). Paraíba: Guarabira (L.X.). — Ceará e Minas.

C. PLUMIERI (Jacqu.) Bth. — Flôres bonitas, com larga faixa violáceo-purpúrea sôbre fundo branco. Pernambuco e Paraíba, zona da mata inclusive o litoral, em capoeiras úmidas sobretudo na vizinhança de lugares habitados; freqüente nos arredores de Recife e João Pessoa. — América tropical e Antilhas.

C. PUBESCENS Bth. — Como *brasilianum*, porém menos comum. Freqüente nos arredores de Recife e João Pessoa. — Do México à Bahia; Antilhas.

C. VIRGINIANUM (L.) Bth. — Como *brasilianum* e *pubescens*, porém menos freqüente. Arredores de Recife; Tapera e Pesqueira (P.). — América tropical e subtropical, e Antilhas (ausente da Amazônia brasileira).

PERIANDRA Mart. — 6 espécies descritas, tôdas brasileiras. Arbustinhos eretos ou ervas volúveis.

P. COCCINEA (Schrad.) Bth. — Erva volúvel, com grandes flôres vermelhas; vive em terrenos abertos, secos. Pernambuco e Paraíba: tabuleiro alto de També, freqüente. Pernambuco: Garanhuns e Serra Negra (A.L.). — Maranhão, Piauí, Bahia e Ceará.

P. DULCIS Mart. ex Bth. — Arbustinho com flôres violáceas e raiz adocicada, próprio de lugares secos, arenosos ou pedregosos. Pernambuco: Piedade perto de Recife (A.L. 50-507). Pernambuco e Paraíba: tabuleiro de També. Paraíba: João Pessoa, transição entre tabuleiro e mata (L.X.). — Pará (campos altos), Ceará, Bahia, Minas e São Paulo.

ERYTHRINA L. — 104 espécies (Krukoff o.c.) tropicais e subtropicais no Novo e no Velho Mundo; no Brasil, poucas. Árvores de variado porte, com madeira mole; as flôres de tôdas são grandes, vermelhas ou alaranjadas, raramente róseo pálido (*E. amazonica* Kr.).

E. GLAUCA Willd. — Árvore aculeada com flôres côr de laranja, comum na Amazônia. Recife, restinga do Pau Sêco, margem de um pequeno rio, aparentemente espontânea. Da hiléia à América Central.

E. VELUTINA Willd., "mulungu". — Árvore de flôres vermelhas, freqüentemente cultivada no Nordeste e talvez espontânea em alguns lugares. Pernambuco e Paraíba, dispersa por todo o Agreste, rara na Zona da Mata. — Nordeste e Centro do Brasil; Venezuela, Equador e Antilhas (Krukoff: The American species of *Erythrina*). Não se conhece com segurança o "habitat" espontâneo da espécie.

MUCUNA Adans. — Numerosas espécies (cêrca de 100 segundo AMSHOFF) nos países tropicais e subtropicais do globo, poucas no Brasil. Arbustos ou ervas de grande porte, volúveis (com excepção de uma espécie exótica, ereta).

M. SLOANEI Fawc. et Rendle (= *urens* L. sensu Bentham). "ôlho de boi". — Trepadeira de grandes flôres amarelas e frutos com pêlos urentes, não rara em capoeiras nos arredores de Recife (Igaratú, A.L. 49-320); Tapera (P. 239, 2 778). — Norte da América tropical, para o Sul até Goiás e Bahia; Antilhas; África ocidental.

CALOPOGONIUM Desv. (= *Stenolobium* Bth.). — 6 espécies, americanas, tropicais e subtropicais. Trepadeiras semiherbáceas, volúveis (uma espécie argentina é planta ereta), com flores azuis ou violáceas.

C. CAERULEUM (Bth.) Hemsl., "catinga de macaco" (A.L.). — Trepadeira com flôres azúis, pequenas, de capoeiras úmidas, de preferência em culturas abandonadas. Pernambuco e Paraíba, comum na zona da mata inclusive o litoral. — América tropical e subtropical meridional, Antilhas.

C. MUCUNOIDES Desv. (= *Sten. brachycarpum* Bth.). — Trepadeira menor e em geral rasteira. Pernambuco: Arcoverde (V.S., herb. I.P.A. 209). — Da Bahia à América Central.

C. VELUTINUM (Bth.) Amsh. — Mais robusto; flôres mais compridas e de côr mais violácea. Pernambuco: não raro em capoeiras nos

arredores de Recife e Amaragí (D.); Quipapá (A.L. 50-598). — Espírito Santo, Bahia; Guiana holandesa.

GALACTIA P. Br. — Cêrca de 80 espécies (Amshoff), nas regiões tropicais e subtropicais, sobretudo da América; o maior centro está no Brasil Central. Ervas, semiarbustos e arbustos pequenos, volúveis, prostrados ou eretos; limitadas a campos altos e mato sêco.

G. GLAUCESCENS H.B.K. — Pernambuco: Tapera, várzea (P. 672, determ. Hoehne). — Minas, Goiás, Ceará (Crato), Piauí; Colômbia.

G. STRIATA (Jacqu.) Urban (= *tenuiflora* Wight et Arn. = *filiformis* (Jacqu.) Wallich). — Cipòzinho de capoeiras sêcas. Pernambuco: Recife, Estrada da Aldeia (D. e A.L.); Tapera (P. 4 010). Pernambuco e Paraíba: tabuleiro de També (M.). Paraíba: Itabaiana (M. 4 909). — América tropical e meridional subtropical, dispersa.

CAMPTOSEMA Hook. et Arn. — Cêrca de uma dúzia de espécies (Burkart), distribuidas dispersamente, do Sul do Estado do Pará até a Argentina subtropical e temperada. Arbusto e semiarbustos, eretos ou volúveis, com grandes flôres purpúreas ou escarlates.

C. CORIACEUM (Nees et Mart.) Bth. — "Pernambuco", Gardner 4 116 (Fl. Bras.). — Minas, Goiás, Bahia. — Não visto.

CRATYLIA Mart. ex Bth. — 6 espécies, distribuidas desde a parte meridional da Amazônia até a Argentina subtropical. Arbustos volúveis, flores violáceas.

C. MOLLIS Mart. ex Bth. — Pernambuco, sertão: Inajá (A.L. 49-255); Buique (V.S. herb. I.P.A. 727). — Piauí.

DIOCLEA H.B.K. Cêrca de 30 espécies descritas dos trópicos americanos, poucos dos do Velho Mundo; o centro maior está na hiléia (17 espécies na Amazônia brasileira); 3 na Argentina subtropical. A classificação das espécies está imperfeita, por falta de material completo nos herbários (9). Arbustos volúveis (com excepção de uma espécie, descrita como ereta) de porte mediano, grande ou máximo, ornamentais, com bonitas flôres que vão do branco ao purpúreo e violáceo.

D. GLABRA Bth. — "Prov. Pernambuco", Gardner 2 823 (Fl. Bras.). — Da hiléia até Piauí, Goiás e Mato Grosso.

D. GRANDIFLORA Mart. ex Bth., "mucunã". — Cipó robustíssimo que pode subir em árvores grandes; flôres violáceo claro, vistosas; das sementes prepara-se uma farinha comestível. "Joazeiro, Pernambuco" (hoje Bahia), Fl. Bras. Comum no sertão de Pernambuco (A.L.); Pombos (P. 3 204, como *malococarpa,* det. Killip).

D. MALOCOCARPA Ducke. — Recife, mata de Mussurepe (A.L. 52-1 019), com ligeira dúvida. — Amazônia brasileira.

D. VIRGATA (Rich.) Amsh. (= *lasiocarpa* Bth.). — Cipó de caule fino, de capoeiras sobretudo ao longo de estradas. "Prov. Pernambuco",

(9): Para determinar com segurança as espécies precisa-se de raminhos novos para verificar a presença ou ausência de estipulas; de inflorescências muito novas, com brácteas; de inflorescências adultas, com os nódulos floríferos; de frutos adultos e sementes.

Gardner 940 (Fl. Bras.). Vulgar em tôda a zona da mata inclusive o litoral, desde Recife a João Pessoa. — América do Sul tropical e subtropical.

No mínimo duas outras espécies dêste gênero foram coletadas em Pernambuco e na Paraíba, porém em espécimes incompletos que não permitem determinação segura. Uma das mesmas é P. 2 621 (com o nome *malacocarpa* det. Killip.), de Tapera.

CANAVALIA Adans. — Cêrca de 40 espécies (Burkart), nas regiões tropicais do globo. Ervas ou subarbustos; as espécies brasileiras tôdas são volúveis.

C. BRASILIENSIS Mart. ex Bth. — Trepadeira baixa de capoeiras úmidas. Pernambuco: Tapera (P. 1 462, 2 766 e 2 767); Afrânio (A.L. e M. 52-1 065). Paraíba: Alagoinha (L.X.). — América do Sul tropical.

C. MARITIMA (Aubl.) Thou. (= *obtusifolia* DC.). — Trepadeira baixa, freqüente nas praias de ambos os estados. — Cosmopolita tropical litoral.

C. PARVIFLORA Bth. — Cipòzinho que trepa bastante alto, de beiras e clareiras da mata. Pernambuco: arredores de Recife (A.L. 50-612, 52-1 016); Tapera (P. 2 641, 2 779). — Do Sul tropical do Brasil até o Acre.

RHYNCHOSIA Lour. — Numerosas espécies (de 150 a 200, conforme os autores) nos países tropicais e subtropicais, sobretudo na África; poucas no Brasil. Ervas ou arbustinhos com flôres amarelas.

R. MINIMA (L.) DC. — Erva pequena, volúvel, de lugares abertos, secos. Pernambuco: Tapera (P. 267). Paraíba: Alagoinha (L.X.). — Cosmopolita tropical e subtropical.

R. PHASEOLOIDES (Sw.) DC., "ôlho de pombo". — Arbustinho volúvel de caule plano, vulgar em capoeiras ao redor de Recife e João Pessoa e por tôda a Zona da Mata. — América tropical e Antilhas.

ERIOSEMA DC. — Numerosas (100 a 120) espécies, sobretudo na África e América, tropicais e temperadas meridionais; 1 na Ásia tropical e Austrália. Subarbustos pequenos com flôres amarelas, eretos ou prostrados, característicos para a flora de cerrados, chapadas, campos altos e tabuleiros; bastante numerosas no Brasil Central.

E. SIMPLICIFOLIUM (H.B.K.) Walp. — "Prov. Pernambuco", Gardner 2 818 (Fl. Bras.). Pernambuco e Paraíba: tabuleiro de També (A.L. 52-1 174; M.). — Norte da América do Sul até o Brasil Central.

E. VENULOSUM Bth. — "Serra da Batalha, prov. Pernambuco", Gardner 2 817 (Fl. Bras.). — Goiás, Minas. — Não conheço esta espécie.

PHASEOLUS L. — "Gênero que consta aproximadamente de 180 espécies, em geral polimorfas, distribuidas nas zonas quentes de ambos os hemisférios, porém com predominância manifesta na América" (Burkart o.c.); a nomenclatura é, nêste gênero, sumamente confusa,

sendo aliás quase impossível dividir o mesmo em espécies naturais. Ervas volúveis, ou (em poucos casos) semiarbustos eretos; poucas espécies no Nordeste do Brasil, um número maior no Centro e na Amazônia.

P. BRACTEOLATUS Nees et Mart. — Pernambuco: Tapera (P. 2 475, como *panduratus* Mart., det. Killip); Quipapá (A.L. 50-572). — Piauí, Bahia, Minas.

P. LONGIPEDUNCULATUS Mart. ex Bth. — Vulgar em terrenos abertos nos arredores de Recife e João Pessoa e ao que parece por tôda a Zona da Mata. — América tropical e subtropical meridional.

P. MARTII Bth. — Pernambuco: Floresta, serra do Arapuá (A.L. e M. 52-1 154). — Piauí; Paraguai.

P. PEDUNCULARIS H.B.K. VAR. ?. — Trepadeirinha rasteira de flôres violáceas, vulgar nas restingas e em praias dos arredores de Recife (P. 4 220, como *membrananaceus* Bth.) e João Pessoa. — América Central e meridional tropical e subtropical.

P. SEMIERECTUS L. (= *lathyroides* (L.) Hassl.). — Erva ereta ou semiereta de lugares abertos e secos, sobretudo em campos de cultura abandonados. Comum nos arredores de Recife e João Pessoa como no interior dos dois estados. — América tropical e Antilhas.

P. SP. ? (material escasso). — Pernambuco: Tapera (P. 2 456, como *lathyroides* L., det. Killip).

VIGNA Savi. — "Gênero com umas 80 espécies tropicais e subtropicais, em sua grande maioria africanas, pois só uma meia dúzia é espontânea na América" (Burkart o.c.). Ervas; as poucas espécies brasileiras, volúveis. — Gênero artificial que melhor ficaria como mera secção de *Phaseolus*.

V. LUTEOLA (Jacqu.) Bth. — Trepadeirinha de caule tênue e flores amarelas, que aparece em terrenos cultivados, praias e beiras de caminhos. Pernambuco: Tapera (P. 3 720, como *vexillata,* det. Standley); não rara nos arredores de Recife. — América tropical e temperada.

V. VEXILLATA (L.) Rich. — Mais robusta que a precedente; flores lilás com branco. Terrenos cultivados e beiras de caminhos. Pernambuco: Tapera (P. 247, 2 766); não rara nos arredores de Recife .— Cosmopolita tropical.

Leg. Pap., tribo *Vicieae*

Tribo própria de climas frios ou temperados, com raras espécies subtropicais. O único gênero tropical é aberrante e constitui (segundo Burkart o.c.) uma transição para as Faseoleas.

ABRUS L. — Cêrca de 5 espécies (segundo AMSHOFF) nos trópicos dos dois hemisférios. Cipòzinhos volúveis de caule tênue, lenhoso na base.

A. PRECATORIUS L. — "jiquirití". — Bem conhecido pelas sementes vermelhas com mancha preta (muito venenosas). Pernambuco: Re-

cife e arredores, em terrenos arenosos secos; a planta é também conhecida na Paraíba e aliás provàvelmente em todo o Nordeste. — Cosmopolita tropical de origem desconhecida.

Leg. Pap., tribo *Genisteae*

Tribo sobretudo própria de climas temperados, com um só gênero representado nos trópicos americanos.

CROTALARIA L. — Grande número (cêrca de 400) de espécies, principalmente tropicais mas com algumas mesotérmicas. Ervas ou arbustos que raramente alcançam a altura de 2 metros; flôres, nas espécies brasileiras, amarelas ou alaranjadas.

C. HOLOSERICEA Nees et Mat. — Lugares abertos, secos. Pernambuco: Gravatá, catinga (P. 1 179); Quipapá (A.L. 50-577). Pernambuco e Paraíba: tabuleiro de També (D. e A.L. 50). — Piauí, Bahia, Minas.

C. INCANA L. — Erva dispersa pelo Brasil, em culturas abandonadas; talvez só subespontânea, por ser freqüentemente cultivada para adubo verde. Pernambuco: Olinda (P. 774). — Cosmopolita tropical e subtropical; origem desconhecida.

C. RETUSA L. — Erva dura de lugares abandonados, comum nas praias de Recife e João Pessoa. — Cosmopolita tropical; origem desconhecida.

C. STIPULARIA Desv. — Erva de lugares abertos e secos. Freqüente em terrenos cultivados dos arredores de Recife e João Pessoa. — América meridional tropical e subtropical, e Antilhas.

C. STRIATA DC — Erva dura de terrenos abandonados, pastos, praias habitadas. Pernambuco: comum nos arredores de Recife. — Cosmopolita tropical litoral; origem desconhecida.

C. VITELLINA Ker., FORMA MINOR Bth. — Pernambuco: Quipapá (A.L. 50-608). — A forma típica é de São Paulo; a variedade, do Estado do Rio, Minas e Ceará.

Leg. Pap., tribo *Hedysareae*

Tribo de distribuição mundial, em todos os climas, porém com maior riqueza de gêneros e espécies nas regiões quente-temperadas e subtropicais. Bem representada no Brasil todo, com o centro principal em Minas. As espécies brasileiras são ervas ou subarbustos e habitam, com poucas exceções, lugares abertos, secos, inundados ou temporàriamente inundáveis.

CHAETOCALYX DC. — Cêrca de 18 espécies (Burkart) de ervas volúveis de pequeno tamanho, com flores amarelas. América tropical e subtropical meridional, e Antilhas.

CH. HEBECARPA Bth. — Pernambuco: Tapera (P. 506); Russinha (P. 3 482). — Minas.

Aeschynomene L. — Gênero pantropical e subtropical com mais de 60 espécies (Burkart), sobretudo na África e na parte oriental da América do Sul; no Brasil, o centro principal é Minas. Ervas altas ou prostadas, ou subarbustos; flôres amarelas, numa só espécie violáceas (*Ae. interrupta* Bth., dos campos inundáveis do Rio Branco). Habitam lugares abertos.

Ae. americana L. — (com ligeira dúvida). — Pernambuco: Tapera (P. 1 442). — Ceará: Aracatí, Gardner (Fl. Bras.); América Central (Fl. Bras.); Norte da Argentina (Burkart).

Ae. falcata DC([10]). — Pernambuco: Tapera (P. 3 049, 3 697); Quipapá (A.L. 50-584). — América tropical e subtropical meridional (falta na hiléia).

Ae. filosa Mart. ex. Bth. — Pernambuco: Jatinã (A.L. e M. 52-1 145). — Do Pará (campos pantanosos de Marajó) e dos campos do Rio Branco até Goiás, Bahia e Minas.

Ae. hispida Willd. — Pernambuco: Cabo Sto. Agostinho (A.L. 52-1 045); Tapera (P. 905 e 3 728). Planta de lugares pantanosos, abertos. — América tropical, subtropical, e boreal temperada.

Ae. hispidula H.B.K. — Pernambuco: Tapera (P 3 089). — Da América Central até Bahia e Minas.

Ae. hystrix Poir. — "In arenosis ad Rio S. Francisco, prov. Alagoas", Gardner 1 271 (Fl. Bras.). Pernambuco: arredores de Recife, Tapera etc., em lugares abertos e secos. Pernambuco e Paraíba: freqüente no tabuleiro de També.

Ae. marginata Bth. — Pernambuco: Gravatá (P. 1 176, como *paniculata* Willd.); Quipapá (A.L. 50-571). — Piauí, Ceará.

Ae. sensitiva Sw.([11]), "corticeira". — Comum em pântanos abertos ao sol e em margens de rios, por todo Pernambuco (P. 338 e P. 1 990 estão no herbário Pickel como *Ae. Selloi* Vog.) e Paraíba. O rizoma suberoso serve como cortiça. — América tropical e subtropical meridional, e Antilhas.

Ae. viscidula Mich. — "Prope Piassabussu and Rio S. Francisco, prov. Alagoas", Gardner 1 272 (Fl. Bras.). Paraíba: João Pessoa, estrada de Cabedelo, na areia (L.X.). — Sul dos Estados Unidos e Nordeste Brasileiro.

Poiretia Vent. — 6 espécies na América tropical e subtropical do Sul (ausentes da Amazônia). Subarbustos na maioria volúveis, com flôres amarelas.

P. scandens Bth. — "In montibus prov. Pernambuco a peregrinatoribus plurimis lecta" (Fl. Bras.). Pernambuco: Tapera (P. 3 104); Cararu (A.L. 50-524). — América tropical e Antilhas.

([10]): A estampa 14 da Fl. Bras. não corresponde a esta espécie, mas a *brasiliana* (Poir.) DC.

([11]): A estampa 12 da Fl. Bras. corresponde a esta espécie e não a *A. Selloi* Vog.

STYLOSANTHES Sw. — Cêrca de 30 espécies nos trópicos e subtrópicos de ambos hemisférios, principalmente na África e na América do Sul. Subarbustinhos e ervas eretas (forrageiras no Brasil); flôres amarelas. A maioria das espécies é polimorfa, e os autores divergem quanto à categoria de espécie e variedade.

ST. ANGUSTIFOLIA Vog. — Erva pequena de caule fino, comum na zona da mata e no litoral de ambos os estados, sobretudo em pastos entre as gramíneas. — Hiléia, Maranhão, Piauí e Ceará.

ST. CAPITATA Vog. — Erva pequena, porém dura. Pernambuco: Gravatá (P. 1 104); Goiana, Itapirema (P. 4 152); Araripe (A.L. e M. 52-1 076). Pernambuco e Paraíba: tabuleiro de També (P. 1 721; D. e A.L. 42). — Piauí, Bahia.

ST. GUIANENSIS Sw. — Subarbusto bastante alto de lugares arenosos abertos, secos. *Forma típica*: comum nos dois estados, muitas vêzes à beira de caminhos. — América tropical e temperada do Sul. — VAR. GRACILIS (H.B.K.); comum nos tabuleiros de Goiana, També e outros. — América tropical; na Amazônia, em campos altos.

ST. SCABRA Vog. — "Prov. Pernambuco", Gardner 973 (Fl. Bras.). Freqüente em lugares cultivados, pastagens, etc., na zona da mata dos dois estados. — Do Norte da Argentina à América Central; não observada na hiléia.

ST. VISCOSA Sw. — "Prov. Pernambuco", Gardner 972 (Fl. Bras.). Comum perto de praias, em ambos os estados. — Americа tropical e meridional subtropical, e Antilhas.

ARACHIS L. — A êste gênero eminentemente característico pertence o amendoim cultivado (*A. hypogaea*), de origem incerta. Cêrca de 12 espécies polimorfas, tôdas da América do Sul tropical e subtropical. Erva de flôres amarelas.

A. PUSILLA Bth. — Pernambuco: Tapera (P. 3 031). Paraíba: João Pessoa (L.X.). — Piauí, Ceará e Bahia, e Norte da Argentina.

ZORNIA Gmel. — Cêrca de uma dúzia de espécies, segundo BURKART, 20 segundo AMSHOFF, em países tropicais e temperados de ambos os hemisférios, principalmente na América do Sul. Ervas com flôres amarelas, parecidas com *Stylosanthes*.

Z. BRASILIENSIS Vog. — Erva aromática do sertão. Pernambuco: Petrolândia (A.L. 50-536). — Ceará, Bahia, Minas.

Z. DIPHYLLA (L.). Pers. — Comuníssima nos dois estados como no Brasil inteiro, em várias formas ligadas por transições. — Cosmopolita tropical e subtropical.

Z. TENUIFOLIA Moric. — Pernambuco: Olinda (P. 737); Tapera (P. 2 820; V.S. herb. I.P.A. 243). — Pará (Marajó), Maranhão, Bahia.

DESMODIUM Desv. — Êste gênero é distribuido sôbre tôda a zona tropical e subtropical do mundo e, na América, ainda representado nas duas zonas temperadas. O número das espécies foi avaliado em cêrca de 500 por AMSHOFF, 200 por BURKART. As espécies americanas são

ervas rasteiras ou eretas, ou subarbustos; as flôres são violáceas, lilás ou brancas. Vastíssima distribuição geográfica e polimorfismo dificultam em muitos casos o estabelecimento de espécies naturais, e por isso a nomenclatura botânica, nêste gênero, rivaliza em confusão com a de *Phaseolus*. O nome vulgar mais usado no Brasil inteiro é "carrapicho", aliás aplicado a tôdas as plantas cujos frutos aderem fàcilmente à roupa; no Brasil extra-amazônico usa-se ainda o nome "marmelada de cavalo", alusivo ao valor forrageiro das plantas.

D. ADSCENDENS (Sw) DC. — Erva ou subarbusto semiereto ou rasteiro, comum em tôda parte nos dois estados, sobretudo em pastagens e culturas abandonadas. Estípulas, nos espécimes coletados nos dois estados, soldadas até o meio ou livres até a base, sem que haja outras diferenças entre as plantas; o porte destas corresponde à descrição de *adscendens* (AMSHOFF, BENTHAM, BURKART, HOEHNE, SCHUBERT em Macbride, obras citadas) e não à de *canum* = *incanum* = *frutescens* dos mesmos autores. Está no herbário Pickel com o binômio *Meibomia incana*, det. Hoehne (Tapera, P. 639). — América tropical e meridional subtropical, Antilhas.

D. ASPERUM (Poir.) Desv. — "Prope Pernambuco", Gardner 971 (Fl. Bras.). — Erva alta (até 3 m.) de capoeiras em lugares altos e secos e de tabuleiros, dispersa pela zona da mata e litoral de ambos os estados. No herbário Pickel (3 879), como *Meibomia spiralis*. — Da América Central ao Nordeste do Brasil.

D. BARBATUM (L.) Beth. — Comuníssimo em tôda parte nos dois estados, em beiras de estradas e outros lugares abertos e secos. — América tropical e meridional subtropical.

D. GLABRUM (Mill.) DC. (segundo SCHUBERT em Macbride o.c.) = *molle* (Vahl) DC. — Pernambuco: Pesqueira (P. 4 046); Floresta, Serra do Arapuá (A.L. e M. 52-1 153). Paraíba: Tabaiana (P. 1 459); João Pessoa (L.X.). — Bahia (Joazeiro), Ceará (Aracatí); Guiana, América Central.

D. SPIRALE (Sw.) DC. (= *procumbens* (Mill.) Hitchk., segundo AMSHOFF em Fl. Surin.). — Pernambuco: Russinha (P. 3 648). Paraíba: Cajazeiras (P. 3 906). — América Central e meridional tropical até o Nordeste do Brasil e Centro de Mato Grosso; Antilhas.

D. TRIFLORUM (L.) DC. — A menor das espécies encontradas no Brasil; erva prostrada ou rasteira. Freqüente nos arredores de Recife e João Pessoa, em lugares abertos entre as gramíneas, também em beiras de caminhos. Tem aquí a aparência de planta nativa, porém é indicada por vários autores como originária da índia; segundo outros, seria cosmopolita tropical. No Brasil, encontrada no Centro e Nordeste (até São Luís do Maranhão), porém ainda não na Amazônia.

*

DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES NOVAS

MIMOSA PUNGENTISSIMA n. sp. — Ad sectionis II (*Habbasia*) seriem 3 (*Hubicaules*), speciei *M. obovata* Bth. affinis (secundum descriptionem; plantam non vidi); aculei autem creberrimi (pungentissimi), foliola evidenter trinervia (vel quinquenervia nervis externis tenuibus), pedunculi longi, legumen integrum margine validissime aculeato. Frutex alte scandens undique glaber; aculei recurvi basi dilatata, in caulibus petiolis et inflorescentiarum rhachidibus numerosi. Stipulae parvae. Petiolus cum rhachide usque ad 100 mm. longus, validus: pinnae 3-4-jugae; foliola 1-juga, suprema saepe 2-juga, 15-30 x 10-20 mm. metientia, sat tenuia et fragilia, obovata basi obliqua apice rotundata, supra subtiliter rugulosa, subtus in siccis pallidiora. Folia novella rubra. Bracteae ovatae vel spatulatae, caducae. Flores albi, examinati petalis 3 et staminibus 6; calyx minimus; corolla vix ultra 2 mm. longa. Legumen brevissime et crasse stipitatum, usque ad 60 mm. longum, 12 — 15 mm. latum, non articulatum, planum, glabrum, valvis rugulosis, suturis aculeis recurvis validissimis et acutissimis saepius geminis abundantim armatis.

Recife (Pernambuco), in terrae altae silvis frequens; specimina loco Estrada da Aldeia lecta, florifera 29-VIII-1950 Dárdano A. Lima 50-629, fructifera 20-XI-1951 A. Ducke et Dárdano A. Lima 23.

Mimosa obovata Bth. secundum descriptionem divergit aculeis sparsis, foliolis sub-binerviis, pedunculis brevibus vel brevissimis, legumine inermi in articulos 5 — 8 secedente. *M. ceratonia* L. (Antillae) foliola 3-4-juga habet.

Esta espécie é freqüente na mata dos arredores de Recife, principalmente na capoeira da margem das estradas; dá na vista pela bonita côr vermelha das fôlhas novas. É a mais bem armada das espécies aqui encontradas. Tenho-a como nova, por não poder encontrar, entre as numerosas espécies brasileiras, outra cuja descrição lhe corresponda.

HYMENAEA RUBRIFLORA n. sp. — A specie *H. Martiana* Hayne differt statura parva vel vix media, inflorescentiarum rhachidibus et pedicellis rufotomentosis, alabastrorum tomento brunneo vel rufo, receptaculi stipite brevissimo, calcys segmentis anthesi extus brunneis tenuiter tomentosis, intus rubris dense albidosericeis, petalis staminibus pistilloque rubris, legumine minore et minus fortiter compresso. Arbor parva vel media; folia subtus rufo-vel cano-subferrugineo-tomentosa; inflorescentiarum rhachides vulgo robustiores quam in *H. Martiana;* flores pro genere parvi, vulgo minores quam speciei citatae.

Frequens circa urbem Recife: in silvula secundaria ("capoeira") terris altis ad Estrada da Aldeia 30-4-1952 florifera et cum fructibus junioribus, Ducke et D. A. Lima 99; Dois Irmãos, Dárdano A. Lima 49-267 et 49-280, florifera et cum fructibus adultis.

Esta espécie, em estado florífero, dá na vista pelas flôres bem vermelhas que parecem constituir uma excepção no gênero (as de tôdas as outras que conheço são brancas ou, quando muito, ligeiramente rosadas).

PELTOGYNE RECIFENSIS n. sp. — Speciei *P. pauciflora* Bth. evidenter affinis, differt praesertim pedicellis brevibus, receptaculo minus brevi, sepalis sericeis, leguminis valvis crassis. Arbor mediocris vel magna, cortice brunneo-cinereo, ligno interiore pulchre violaceo, partibus vegetativis omnibus glabris innovationibus solis minute tomentellis. Folia petiolo 5 — 10 mm. longo; foliolorum petiolulus circiter 5 mm. longus, lamina vulgo 50 — 80 mm. x 25 — 50 mm. metiens, plus vel minus falcato-oblonga rarius ovato-vel obovato-oblonga basi vulgo mediocriter inaequilatera apice acuminata, adulta rigide coriacea utrinque dense et valide prominenter reticulata, concolor et nitidula. Racemi in paniculam in speciminibus nostris parvam laxifloram folia parum excedentem compositi, rhachidibus et pedicellis breviter canopuberulis, bracteis et bracteolis non visis, pedicellis vix ultra 2 mm. longis. Flores albi; receptaculum canosericeum breviter turbinatum circiter 1 ½ mm. longum; sepala et petala glandulosa; sepala ovata extus praesertim basi tenuissime canosericea, 3-4- mm. longa; petala obovali-oblonga glabra, sepala parum excedentia. Stamina glabra petalis duplo longiora; ovarium stipitatum, glabrum. Legumina vetusta sub arbore lecta, late obovato-suborbiculata 30-34 mm. diametro, stipe brevi, crasse coriacea, suturis non alatis superiore minus curvata quam inferiore, unilateraliter dehiscentia, semine unico viso, putredine corrupto.

Frequens prope urbem Recife in silva terris altis; "barabús" appellata. Specimina florifera 14-XI-1951, A. Ducke et Dárdano A. Lima 12, loco Estrada da Aldeia; sterilia et legumina vetusta Dárdano A. Lima 51-958, loco Dois Irmãos.

Parece-se à primeira vista com *P. pauciflora* Benth., mas tem raminhos glabros, falíolos maiores e bem mais rijos, pedicelos mais curtos e mais robustos, receptáculo pequeno mas perfeitamente desenvolvido, sépalas revestidas de tênue tomento, e legume com valvas muito mais espessas. *P. pauciflora* distingue-se da presente pelos raminhos novos densamente pilosos, as fôlhas um tanto menores e muito menos rijas, os pecíolos pubescentes, os pedicelos mais compridos, mais delgados e bastante pubescentes, o receptáculo quase nulo, as sépalas glabras, e o legume com valvas muito mais tênues. A forte e regular reticulação das fôlhas é comum a ambas.

CAESALPINIA LEIOSTACHYA (Bth.) Ducke n. sp. (= *C. ferrea var. leiostachya* Bth.). — Ab affini *C. ferrea* Tul. divergit statura elata (usque ad 30 m.), trunco cylindrico recto alto et robusto cortice laevi pulchre albido — et fusco — variegato, glabritie partium omnium exceptis foliolis nonnunquam infra pilosulis, pinnis saepe usque ad 5-jugis, foliolis constanter minoribus et numerosioribus (usque ad 10-jugis); legumen ut videtur semper maius et rectum. Nomen vulgare: pau ferro (Rio, S. Paulo, Bahia, Pernambuco, Paraíba). Spontanea in silvis collinis ad urbem Rio de Janeiro, loco Jacarèpaguá, Glaziou 2 555 secundum BENTHAM, et Glaziou 5 847 in herbaria Mus. Nac. Rio; Avelar, civit. Rio, Machado Nunes 24, in herb. Mus. Nac. Rio; Bahia: Caeteté-Jequié, Zehntner 647 (arbor media foliolis infra pilosulis, inflorescentiis glabris), et Caldeirão de Miranda, Macacos, Zehntner 666

(arbor magna trunco alto recto, foliolis infra pilosulis); Pernambuco: Buique, Vasconcelos Sobrinho, herb. Instituto de Pesquisas Agronômicas Pernambuco, 708, et in silva montana circa Garanhuns vista; Paraíba (Lauro Xavier). Culta in urbe Rio de Janeiro (horto botânico, herb. 342, flor, et fruct.), et in S. Paulo Recife et Manaus.

Esta espécie estava confundida com *C. ferrea*, nos herbários como na literatura botânica, o que se deve em parte ao nome vulgar "pau ferro", aplicável a ambas. O aspecto das árvores é completamente diferente, mas as duas têm em comum o fruto carnoso e indeiscente, único entre as espécies brasileiras dêste gênero. O nome "pau ferro", no Brasil, serve para designar árvores muito diferentes, conforme os estados. No Rio e em S. Paulo êle parece ser reservado para *Caesalpinia leostacya;* em Pernambuco, usado para a mesma espécie e para *Dialium guianense,* e ainda para o "jucá" (*C. ferrea*); no Pará, às vêzes, para *Peltogyne paniculata*.

Swartzia Killip n. sp. — Ad seriem III, *Tounateae* Benth. Arbor parva ramulis cinereis, novellis brunnescenti-pubescentibus. Stipulae subulatae 4 — 5 mm. longae, caducae. Folia imparipinnata, petiolo rhachidisque parte inferiore canotomentosis, petiolo infra foliola 10 — 30 mm. longo, rhachide vulgo 100 — 170 mm., profunde canaliculata et marginata, sub jugis levissime dilatata; stipellae subulatae 1 — 1 ½ mm. longae diu persistentes. Foliola 9 — 15 observata, saepius 13, opposita (terminali excepto), brevissime (1-2 mm.) petiolulata, forma et magnitudine in eodem folio valde variabilia, 15 — 100 mm. longa et 12 — 35 mm. lata, basilia saepe brevia et ovata, intermedia et praesertim superiora ovato-oblonga, lanceolata vel oblanceolato-oblonga, basi rotundata, in inferioribus saepe cordata, in superioribus saepius plus minusve obtusa, apice vulgo acuta vel breviter acuminata, membranacea vel subcoriacea, supra glabra nitida, subtus cinereosericea, nervis et venulis reticulatis prominulis praesertim supra conspicuis. Racemi e ramulis vetustioribus, vix ultra 50 mm. longo, pauciflori, undique ferrugineovelutini, bracteis deltoideis parvis caducissimis, pedicellis robustis apice dilatatis et minute bibracteolatis, anthesi ad 12 mm. longis. Alabastra subovato-globosa minime apiculata, ferrugineosericea, adulta circiter 6 mm. diametri. Calyx anthesi fissus in lobos 4 vulgo 8 — 10 mm. longos reflexos intus dense fulvovillosos. Petalum album glabrum ungue brevi, lamina suborbiculata circiter 12 mm. diametri. Stamina albida, glabra; maiora 4 observata, filamento et anthera multiple longioribus et crassioribus quam staminum minorum; stamina minora numerosissima, glabra. Ovarium glaberrimum, crassum, falcatum, stipite mediocri, stylo brevi uncinato inflexo. Legumen eo speciei *S. Flemmingii* in Martii Flora Brasiliensi descripto et figurato sat simile, at perfecte glabrum, nitidum, siccitate transversaliter prominulo-striatum; suturae parum dilatatae; maturum ut semina et arillus flavidum, usque ad 140 x 60 x 45 mm. metiens, crasse compressum turgidum, stipite brevi vel ad 15 mm. longo; semina usque ad 12 observata.

Pernambuco: frequens circa urbem Recife in terris altis, praesertim in silvula secundaria: inter Dois Irmãos et Macacos (Ducke 2 262, et Vasconcelos Sobrinho herb. Inst. Pesqu. Agrn. 199); prope Tapera (B. Pickel 2 394). Paraíba: inter João Pessoa et Cabedelo, silvula in solo arenoso (Ducke 2 315). Nomen vulgare: "jacarandá branco".

Esta espécie foi classificada como nova, por Ellsworth P. Killip (do U.S. National Herbarium), porém nenhuma descrição foi publicada. O nome indica que a classificação foi baseada numa duplicata do acima citado material do padre Pickel. As espécies próximas, *S. psilonema* (Bahia — Pará), *S. Flemmingii* Raddi (Rio, Minas e Bahia) e *S. multijuga* Vog. (Rio, Minas) têm folíolos mais numerosos e muito menores; *S. psilonema* tem, além disso, ovário seríceo; *S. Flemmingii* tem estames pilosos e ovário tomentoso; *S. multijuga* tem estames hirsutos. Nossa espécie nova é comum nas terras altas perto do Recife, onde ela floresce principalmente no fim da estação chuvosa e começo da sêca (agôsto a outubro), mas ocasionalmente em qualquer mês do ano. O nome popular "jacarandá" que nos estados do Sul e Centro é reservado às espécies de *Dalbergia* e *Machaerium* fornecedores de madeira escura é, no Pará e Maranhão, aplicado à *S. psilonema,* bastante parecida com a espécie presente.

Machaerium viridipetalum n. sp. — A par. 1 (*Lineata* Bth. in Martii Flora Brasiliensi) ad par. 4 (*Reticula* Bth. ibidem) transiens, speciei amazonicae *M. aureiflorum* Ducke proximum, divergens caule non compresso, bracteis et bracteolis conspique maioribus et persistentibus, pedicellis minimis vel nullis, floribus minoribus, petalis pallide viridibus vexillo extus densissime brunneosericeo. Frutex parum alte scandens caulibus subylindricis, ramulis sat tenuibus dense ferrugineo — (demum cano) tomentosis, vetustis glabratis. Stipulae lanceolatae vulgo caducae, hinc illinc persistentes et spinescentes. Foliola saepius 9 vel 11 rarius 13, alterna vel rarius opposita ad 3 mm. petiolulata, 40 — 85 x 20 — 30 mm. metientia, oblanceolata vel obovato-oblonga basi vulgo acuta apice soepius longe et subabrupte acuminata, tenuiter coriacea, supra glabra nitidula, subtus adpresse pilosula et pallidiora, nervis a costa divergentibus crebris parallelis, parti musque ad marginem subtus distincte elevatum conspicuis, partim ante marginem reticulato-anastomosantibus, supra parum subtus distincte prominentibus. Racemi paniculati, ad apices ramulorum vulgo in paniculam amplam compositi, dense rufotomentosi, bracteae lanceolato-ovatae, inferiores 3 — 5 mm. longae cito caducae, superiores (in racemulis floriferis) ad 2 mm. longae post anthesin persistentes. Flores subsessiles vel brevissime pedicellatti; bracteolae sub calyce persistentes 1 — 3 mm. longae ovatae vel ellipticae, ut bracteae et calyx dense rufopilosae. Calyx circiter 3 mm. altus dentibus acutis; petala pallide viridia vexillo 7 — 8 mm. longo extus dense brunneosericeo, alis et carinis 6 — 7 mm. longis. Stamina aequaliter diadelpha. Ovarium longe stipitatum dense rufohirsutum. Legumen longe et tenuiter stipitatum, glabrum, nucleo seminifero circiter 15 mm. longo, ala 30 35 mm. longa.

Non rarum in terris altis circa Recife (Pernambuco), saepius ad marginem silvae. Specimina examinata: Recife, Estrada da Aldeia, 29-8-1950 flor. et 14-11-1951 fructif., Dárdano A. Lima 50-625 et 51-946; Tapera, flor., D. Bento Pickel 2 424 et 3 672 (sub nomine *Diplotropis ferruginea*).

Material de herbário pode ser confundido com *M. aureiflorum* (Amazônia), o que dificilmente acontecerá com a planta viva. A forma dos caules, as brácteas persistentes, e as pétalas verdes e com denso indumento pardo no estandarte distinguem a espécie nova.

Poecilanthe falcata (Vell.) Ducke n. comb., = *Pterocarpus falcatus* Vell. (fructif.), = *Poecilanthe grandiflora* Benth. (florif.). — Material botânico completo, florífero e frutífero (Avelar, Estado do Rio, G. Machado Nunes III-1928, Instituto de Botânica de São Paulo 22 530) confirma a identidade da planta de Vellozo, já suposta por Bentham. Vi ainda espécimes sòmente frutíferos, procedentes da Paraíba do Sul (Edmundo Kuhlmann, Inst. Bot. S. Paulo 34 890) e no Nordeste (citados em parte anterior dêste trabalho). — Bondar 2 209, de Água Preta, Sul da Bahia, tem fôlhas e frutos semelhantes, mas as flôres são muito menores e diferem nalguns detalhes; é possível que seja *P. subcordata* Bth., descrita do Norte de Minas.

Os frutos de tôdas estas plantas correspondem ao desenho de Vellozo mas abrem com deiscência elástica, o que era ignorado por Bentham que por isso colocou o gênero na tribo das *Dalbergieas*. A mesma deiscência é observada nas quatro espécies que habitam a hiléia. A espécie extra-tropical *P. parviflora* Bth. (Uruguai e Argentina) tem fruto discoidal, subcoriáceo, indeiscente, estriado, unisseminado (Burkart o. c. p. 225 e fig. 54) e pertence evidentemente às *Dalbergieas* onde possìvelmente representará um gênero novo.

Contribuição ao conhecimento do tifo exantemático neotrópico no Brasil*

Octavio de Magalhães

(Com 17 graficos)

Chamou-nos a atenção, nos trabalhos de rotina, para o conhecimento desta grave doença em nossa terra, já agora com terapêutica certa e segura, principalmente pela Terramicina, a verificação em 200 (duzentas) necrópsias no total de mais de 300 observações de casos graves, em Minas Gerais, com talvez o dôbro em todo o Brasil, que se não apurassem com frequência mulheres grávidas atacadas pelo virus.

Nas observações clínicas e nas necrópsias, encontrei muitas mulheres atacadas de doença exantemática, com formas graves ou não, mas nenhuma tinha o útero com féto ou abortou após a infecção. Um único caso em o qual houve abôrto e suspeito de Tifo exantemático neotrópico, fôra um êrro clínico, aliás justificavel. Tratava-se de um fóco conhecido do mal, na época do ano em a qual, os casos são mais frequentes. Havia exantema petequial generalizado, febre elevada, sub icterícia, prostração, dôres musculares. Tratava-se, porém, de uma forma septicêmica do meningococos (Neisseria intracellularis (LEHMANN e NEUMANN), sem sinais clássicos de meningite, confirmado pelo exame microbiológico e curado rapidamente com a terapêutica específica. Os exames para Tifo exantemático neotrópico foram negativos.

Ora, é sabido que nos sertões brasileiros e mesmo nos arredores das grandes cidades a mulher, ainda que grávida, até mesmo ao fim da gestação, trabalha talvez tanto ou mais que o homem, inclusive no mistér de ir ao campo, "fazer lenha", ordenhar vacas, capinar hortas ou plantações, etc. Ela está, pois, sugeita ao mesmo gênero de vida que os homens e, portanto, às mesmas possibilidades das infecções pelo Tifo exantemático neotrópico no Brasil.

É preciso assinalar, contudo, que nos trabalhos anteriores sôbre epidemiologia da doença, havíamos firmado o conceito da incidência muito mais acentuada, nos indivíduos do sexo masculino que nos do sexo feminino, das formas graves da doença entre nós. Tínhamos mesmo indagado como seria possível conciliar êstes fatos e agora tentamos esclarecer o problema, realmente digno de registro.

---

* Trabalho do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Belo Horizonte. Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais.

Pela experimentação já havíamos anotado, em cobaias fêmeas, a mesma evolução mórbida que nos machos, da doença experimental. Em muitas cobaias fêmeas é frequente a tumefação vulvar, conforme fotografias que publicamos. Em poucas, porém, prenhas, conseguimos ver o abôrto e o sistema nervoso central do féto não reagia à passagem posterior em outras cobaias machos.

Havíamos mostrado também, mais de uma vez, que o Rhesus fêmea, fecundada no Laboratório e inoculada com a raça V.B. de origem humana e de passagem, póde contrair a doença típica, morrer no prazo comum e os fetos mortos retirados do útero apresentarem o virus no sistema nervoso central e no sangue do coração, mostrando que a placenta póde deixar passar a raça V.B. do agente etiológico do tifo exantemático neotrópico no Brasil.

Retomando agora êsses dados, procuramos ver o que haveria no fundo dessas observações, humanas e experimentais. Teria sido simples coincidência a nossa observação?

Dizem LEVADITI e LÉPINE * no Tomo II, página 845: — "Le cobaye présente, après une incubation toujours supérieure à 5 jours et habituellement de 8 à 12 jours dans le typhus historique, une maladie charactérisée exclusivement par la curve thermique (et par l'avortement chez les femelles pleines)".

Os autores afirmam que não há mortalidade, nem mesmo emagrecimento notável. A nutrição é normal para cobaios machos e fêmeas.

Como vemos, é bem diferente o quadro da doença experimental no cobaio, provocado pela raça V.B. do virus brasileiro. Teria a placenta algum papel de defesa, protetor, contra a raça V.B. do virus brasileiro?

No livro "Marshall's Physiology of Reproduction", de 1952 lê-se no capítulo VI: "The placenta as an Endocrine Gland" — "Numerous enzymes and hormons can be extracted from placenta" e adiante: "It appears that the placenta secrets the following hormones with useful functional effects during pregnancy oestrogen, progesterone and gonadotrophin" (L. H. e T. S. H.).** O enxerto de placenta confirma o *Contribuição ao conhecimento da melhor terapêutica curativa do tifo exantemático neotrópico no Brasil (doença de Piza, Meyer e Gomes)* poder secretório do tecido.

Que a placenta tem poder defensivo grande, contra infecções, é coisa conhecida. Ainda êste ano, um autor polaco, LADISLAS preconizou o emprêgo do *sangue placentário* no tratamento de numerosas infecções. No sarampo os efeitos terapêuticos foram dignos de registro.

Inoculamos, para comparar, cobaios machos e fêmeas, estas prenhes ou não. Aqueles, como testemunha, só com a raça V.B. ou conjuntamente com extrato de placenta humana que nos foi gentilmente cedido e preparado pelo Prof. SANTIAGO AMERICANO FREIRE.

Analisando os traçados que acompanham êste trabalho, que poderemos concluir?

---

* C. LEVADITI e P. LÉPINE e al. — "Les Ultravirus des Maladies Humaines. 2 T. Libraire Malvine. Paris. MCMXXVIII.

** Marshall's Physiology of Reproduction. 3rd Edition 1952. Edited by A. S. Parker. Vol. II:377-397. London-New York-Toronto.

Os cobaios fêmeas podem morrer quando prenhes, mas não raro, apesar de reagirem termicamente ao virus V.B., escapam à morte com certa frequência e, quando morrem, apresentam lesões discretas. O extrato placentário, inoculado previamente ou concomitantemente com a raça V.B. não impediu a sequência do quadro mórbido no cobaio macho, dele se insulando, após a morte, novamente a raça V.B.

Com os cobaios machos, não notamos diferença na evolução térmica, nem mesmo nas lesões anatomo-patológicas, entre os testemunhos e os injetados também com extratos placentários.

Dadas as relações entre hormônios sexuais femininos e as cápsulas supra-renais diretamente ou através da hipófise, pensamos que, talvez, a Cortisone tivesse algum papel na defesa do organismo feminino contra as infecções pela raça V.B. Havíamos lido o trabalho de Normann e Cromartie, sôbre o papel protetor da Cortisone na infecção experimental dos coelhos pela "Salmonella typhosa" mas, ao mesmo tempo, êste ano, líamos o trabalho de Seneca e Rockenbach, da ação negativa da Cortisone nas infecções pelo Trypanosoma cruzi, nos ratos.

Empregamos, para os nossos trabalhos, uma suspensão salina do Acetato de Cortone, da fábrica Merck & Cia., U.S.A. (11-Dihidro-17 hidroxicorticoesterona-21-acetato), em a qual cada cc tem 250 mg da droga. O quadro junto com o testemunho dá nítida impressão de nenhuma ação protetora da Cortone na doença experimental no cobaio, provocada pela raça V.B. do Tifo exantemático neotrópico no Brasil.

Para completar nossos trabalhos, resolvemos, em primeiro lugar, empregar o "Apoidin" (Parke-Davis), a ver se êsse hormônio tinha influencia na cura da doença. A dose foi de 100 unidades ratas, diariamente, em cobaias, via sub-cutânea, sendo que as inoculações foram iniciadas 48 horas antes em uma, e 24 horas após em 2 outras, injetadas com a raça V.B. Todos os animais reagiram tipicamente, tal qual o testemunho e morreram com lesões características.

A última tentativa foi com sangue total placentário humano, graças à gentileza do Dr. Alencar de Carvalho. O sangue era colhido aceticamente, citratado e conservado na vizinhança constante de zero gráu centígrado. Empregamos nesta última experiência, 13 cobaios com 2 testemunhas. O sangue foi obtido de mais de uma placenta e os cobaios recebiam via sub-cutânea uma quantidade total de sangue citratado, variável, de 1 a 2cc diariamente. A doença experimental nestes animais com a raça V.B., evoluiu sem grandes modificações, igual mesmo ao das testemunhas e as passagens posteriores do material dos que morreram, em cobaios normais, mostraram que o virus não sofrera qualquer influência terapêutica curativa apreciável.

CONCLUSÃO

O extrato total placentário humano, o Apoidin (Parke-Davis — hormônio sexual pré-hipofisoide), a Cortone (Merck, U.S.A. — acetato de Cortisone) e o sangue placentário total humano citratado, quando injetado como terapêutica curativa não tiveram influência alguma benéfica na evolução da doença experimental pela raça V.B. no cobaio.

As cobaias fêmeas prenhes, quando inoculadas com a raça V.B. apresentam, não raro, uma evolução mórbida aparentemente mais benigna que as não fecundadas.

RESUMO

O extrato total placentário humano, o Apoidin (Parke-Davis) (hormônio sexual pré-hipofisoide), a Cortone (Merck, U.S.A. — acetato de Cortisona) e o sangue placentário total humano citratado, quando injetados como terapêutica curativa, não tiveram influência alguma benéfica na evolução da doença experimental pela raça V.B. no cobaio. As cobaias fêmeas prenhes, quando inoculadas com a raça V.B. apresentam, não raro, uma evolução mórbida aparentemente mais benigna que as não fecundadas.

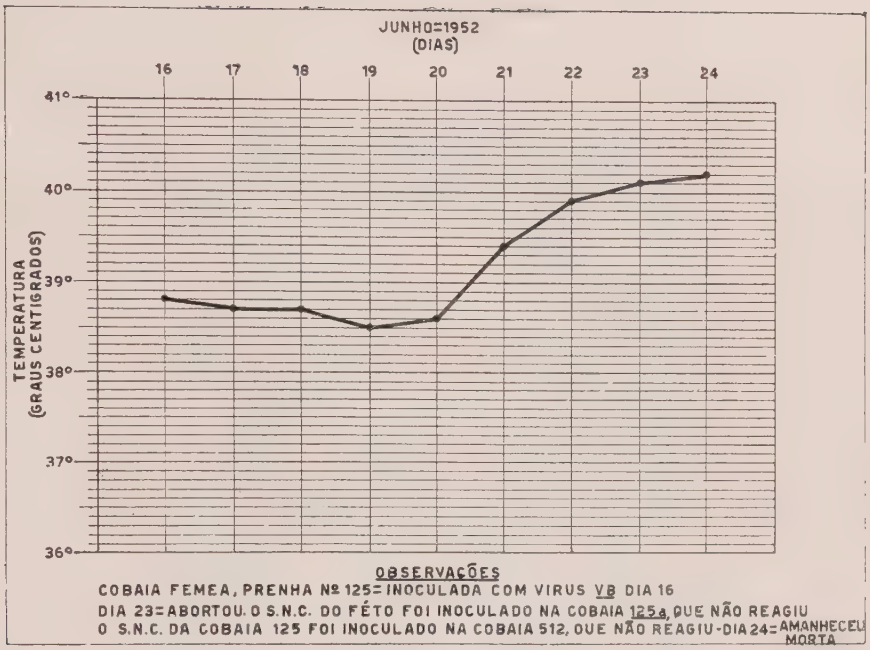


Gráfico 1

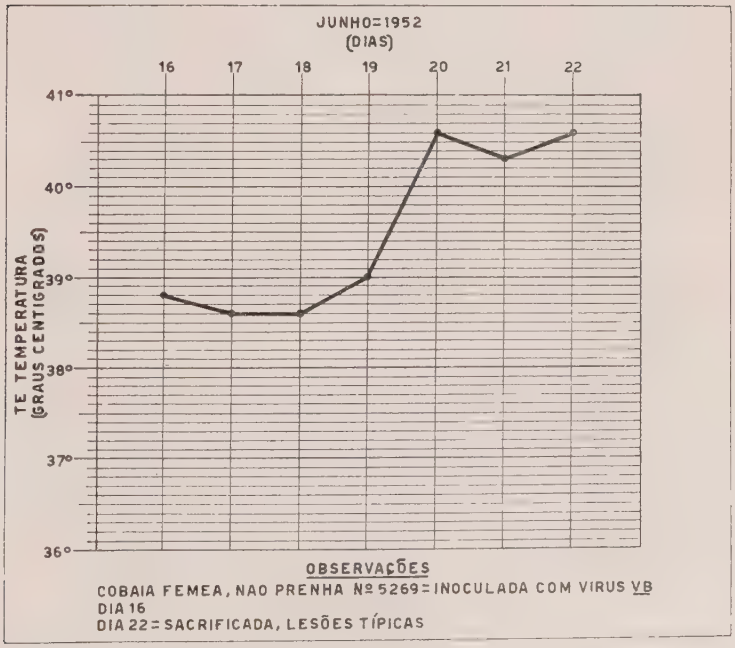


Gráfico 2

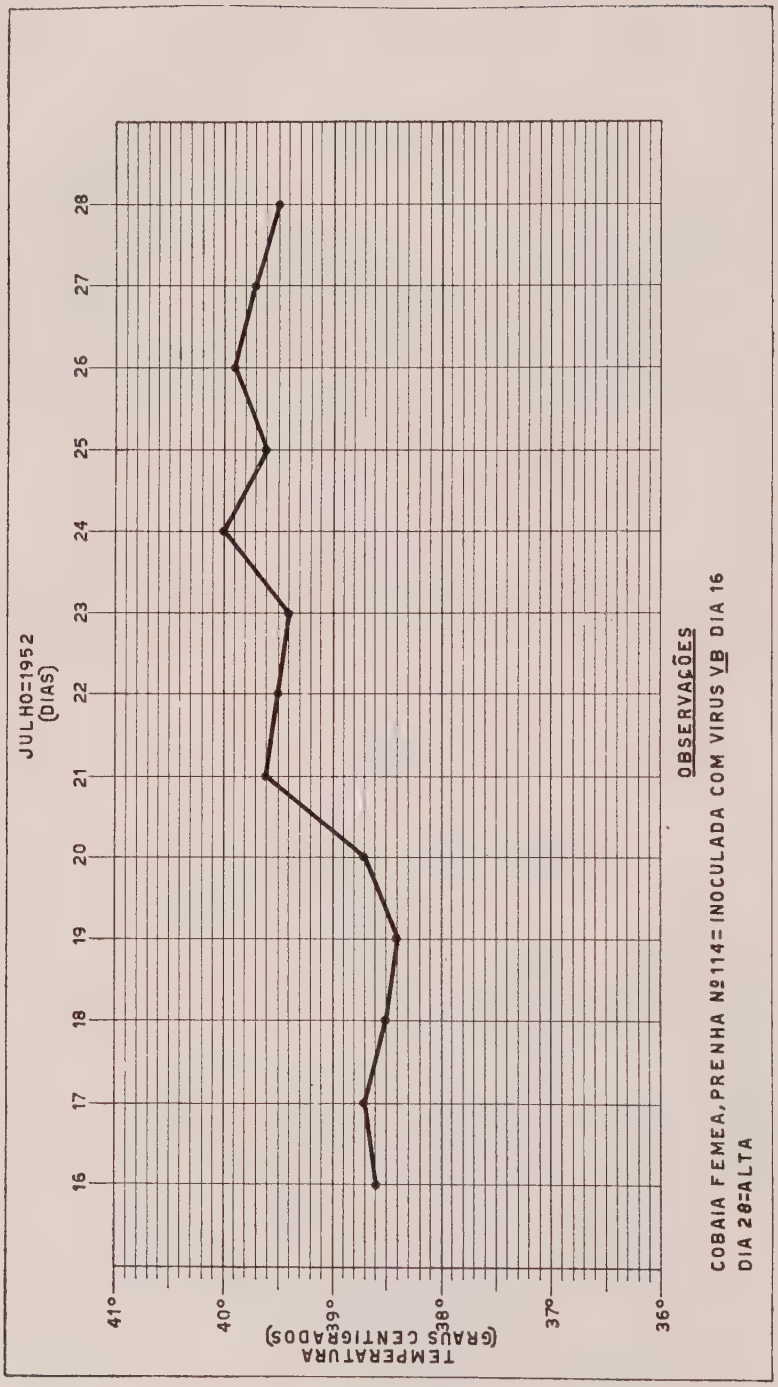

TEMPERATURA
(GRAUS CENTIGRADOS)
41°
40°
39°
38°
37°
36°
JULHO=1952
(DIAS)
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
OBSERVAÇÕES
COBAIA FEMEA, PRENHA Nº114= INOCULADA COM VIRUS VB DIA 16
DIA 28=ALTA

Gráfico 3

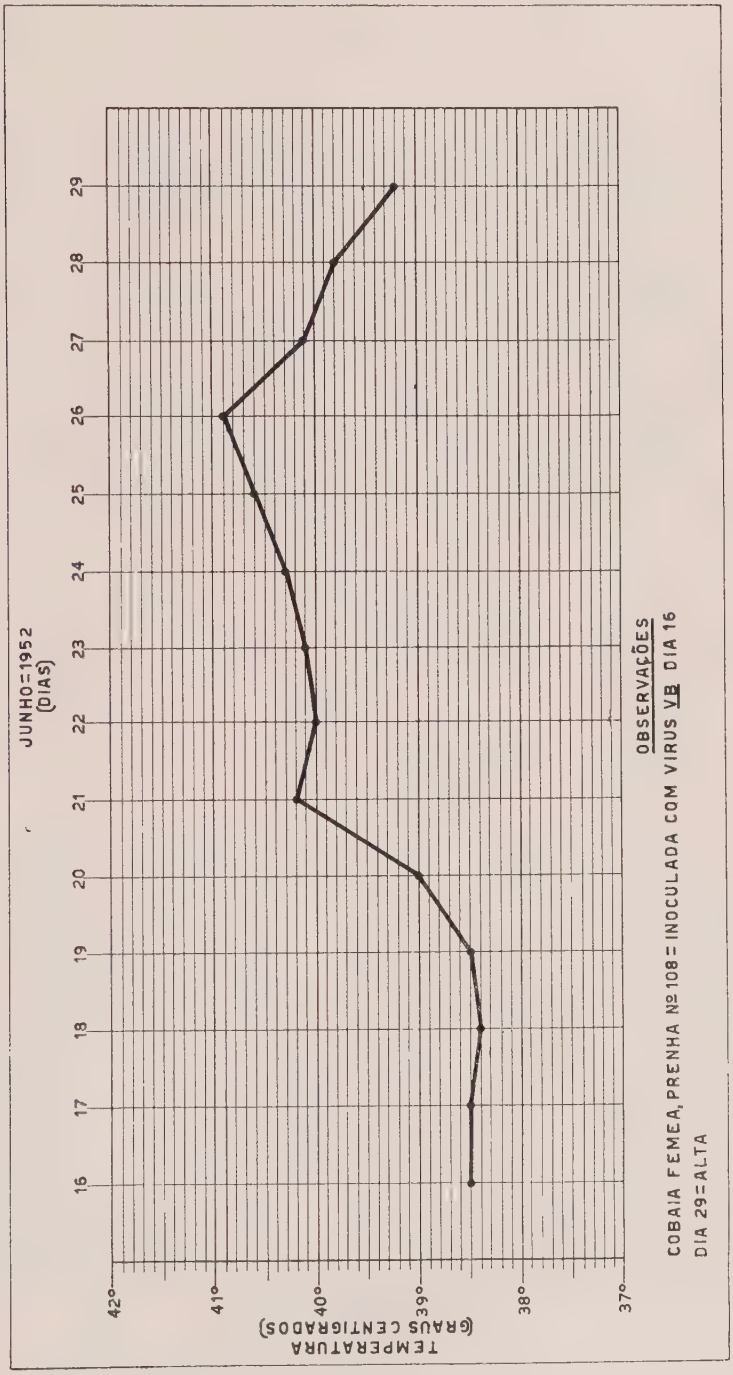

TEMPERATURA
(GRAUS CENTIGRADOS)
42°
41°
40°
39°
38°
37°
JUNHO=1952
(DIAS)
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
OBSERVAÇÕES
COBAIA FEMEA, PRENHA Nº 108 = INOCULADA COM VIRUS VB DIA 16
DIA 29 = ALTA

Gráfico 4

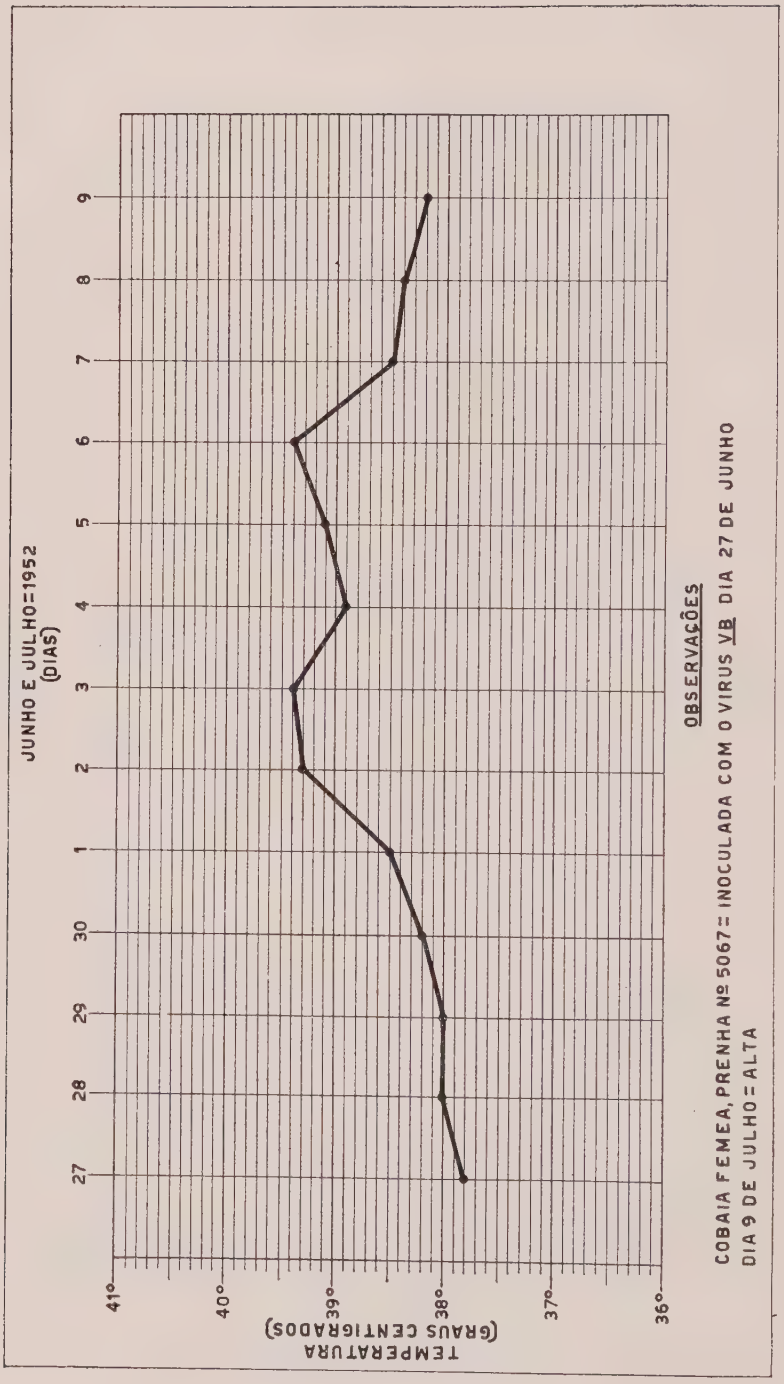

JUNHO E JULHO=1952
(DIAS)
27 28 29 30 1 2 3 4 5 6 7 8 9
TEMPERATURA
(GRAUS CENTIGRADOS)
41° 40° 39° 38° 37° 36°
OBSERVAÇÕES
COBAIA FEMEA, PRENHA Nº 5067= INOCULADA COM O VIRUS VB DIA 27 DE JUNHO
DIA 9 DE JULHO= ALTA

Gráfico 5

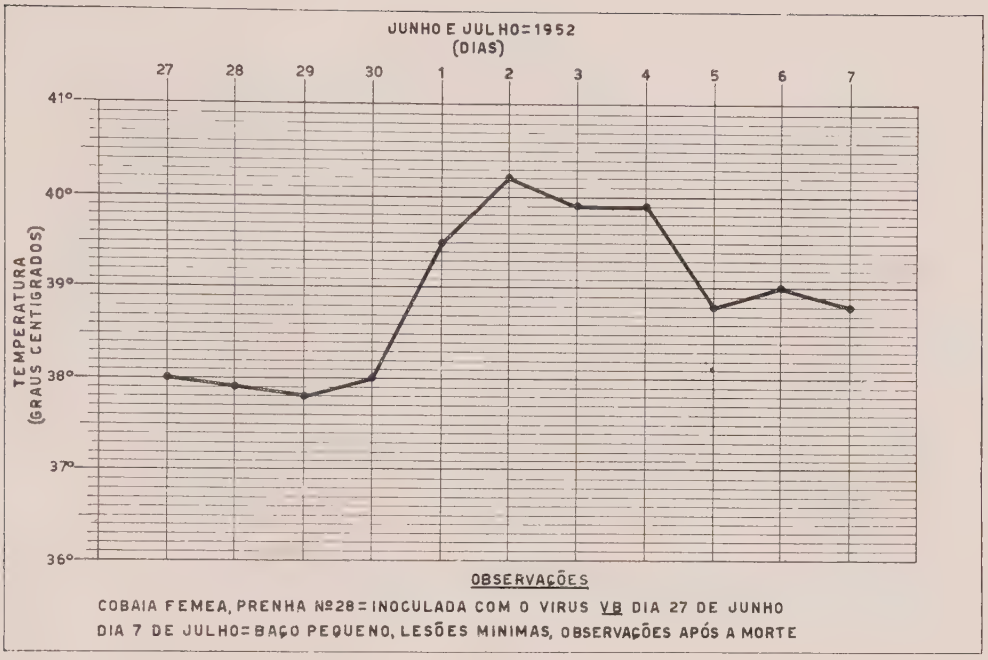


Gráfico 6

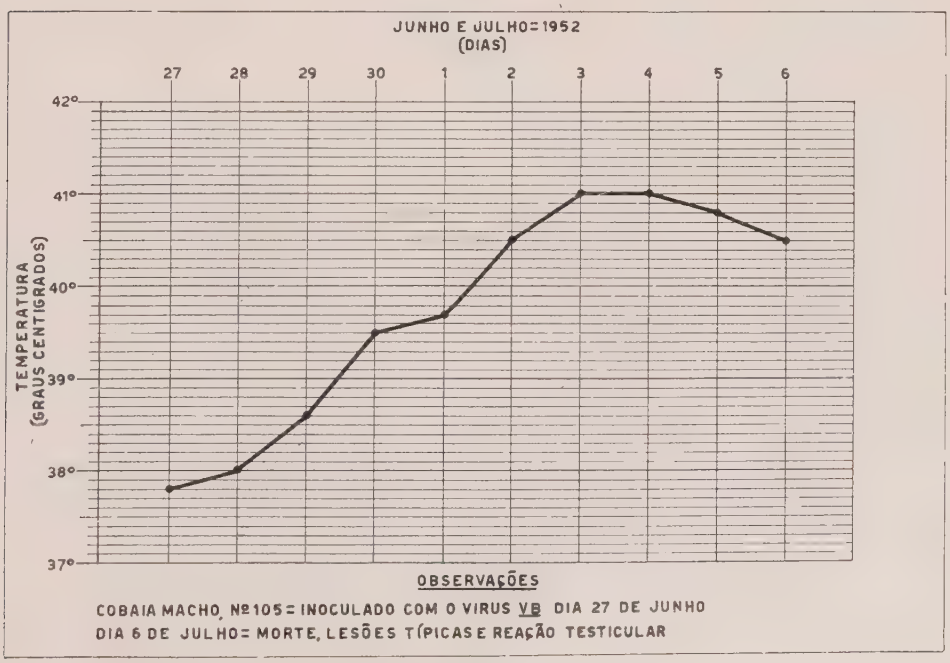


Gráfico 7

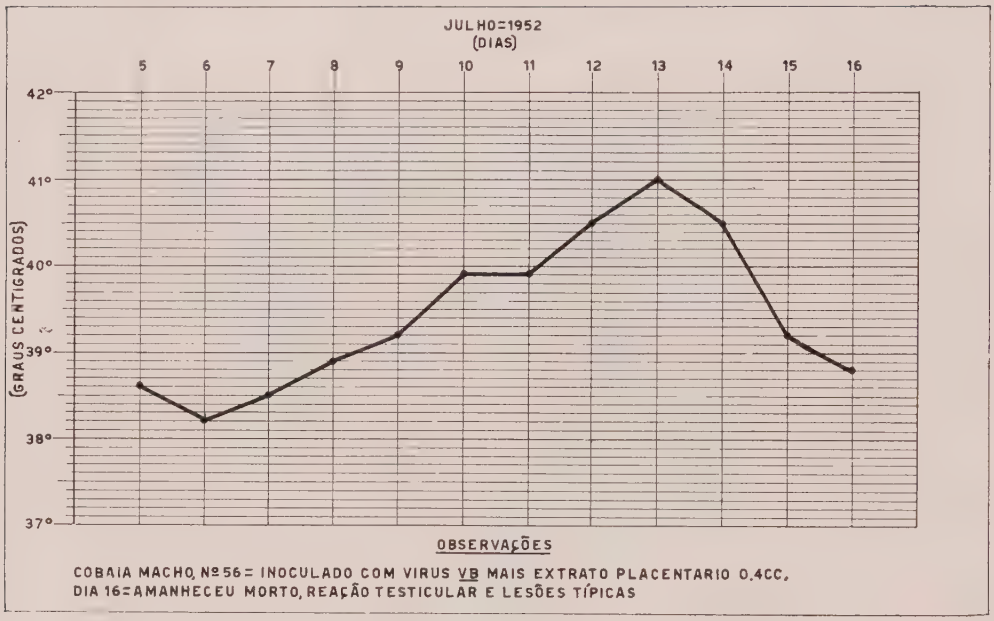


Gráfico 8

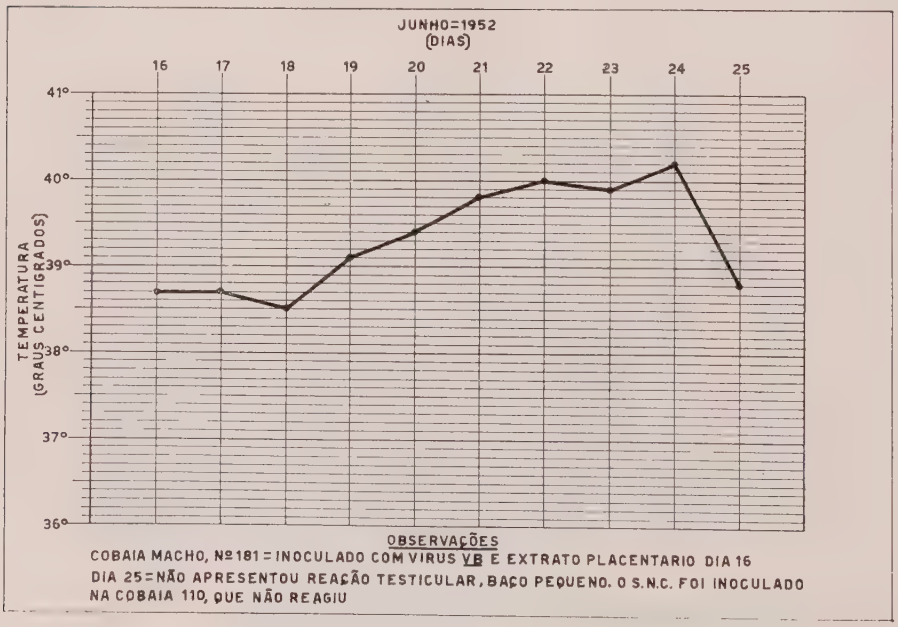


Gráfico 9

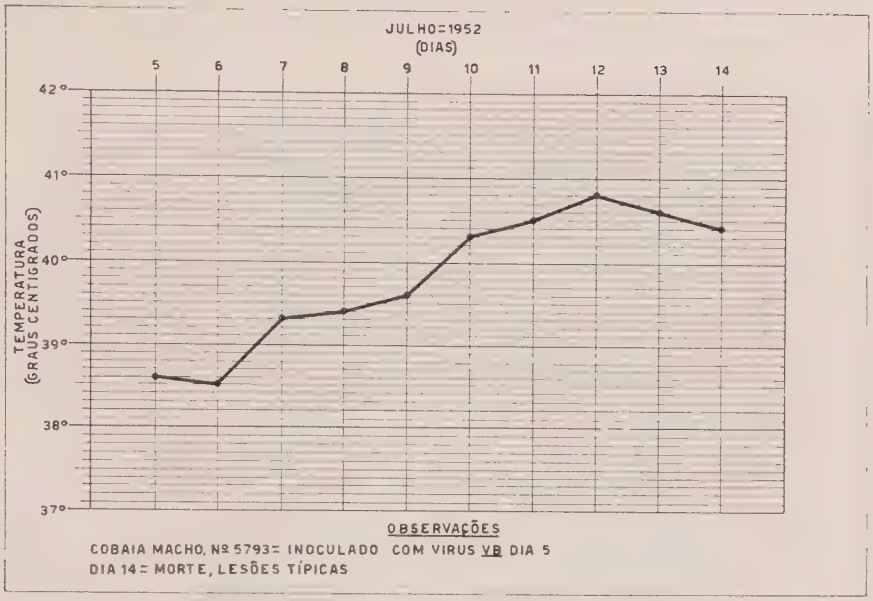


Gráfico 10

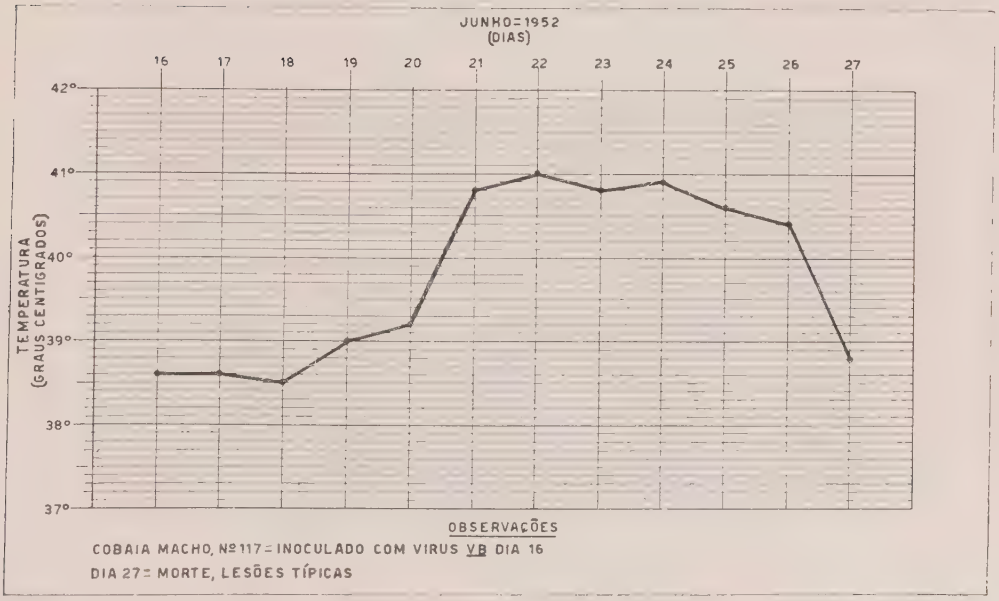


Gráfico 11

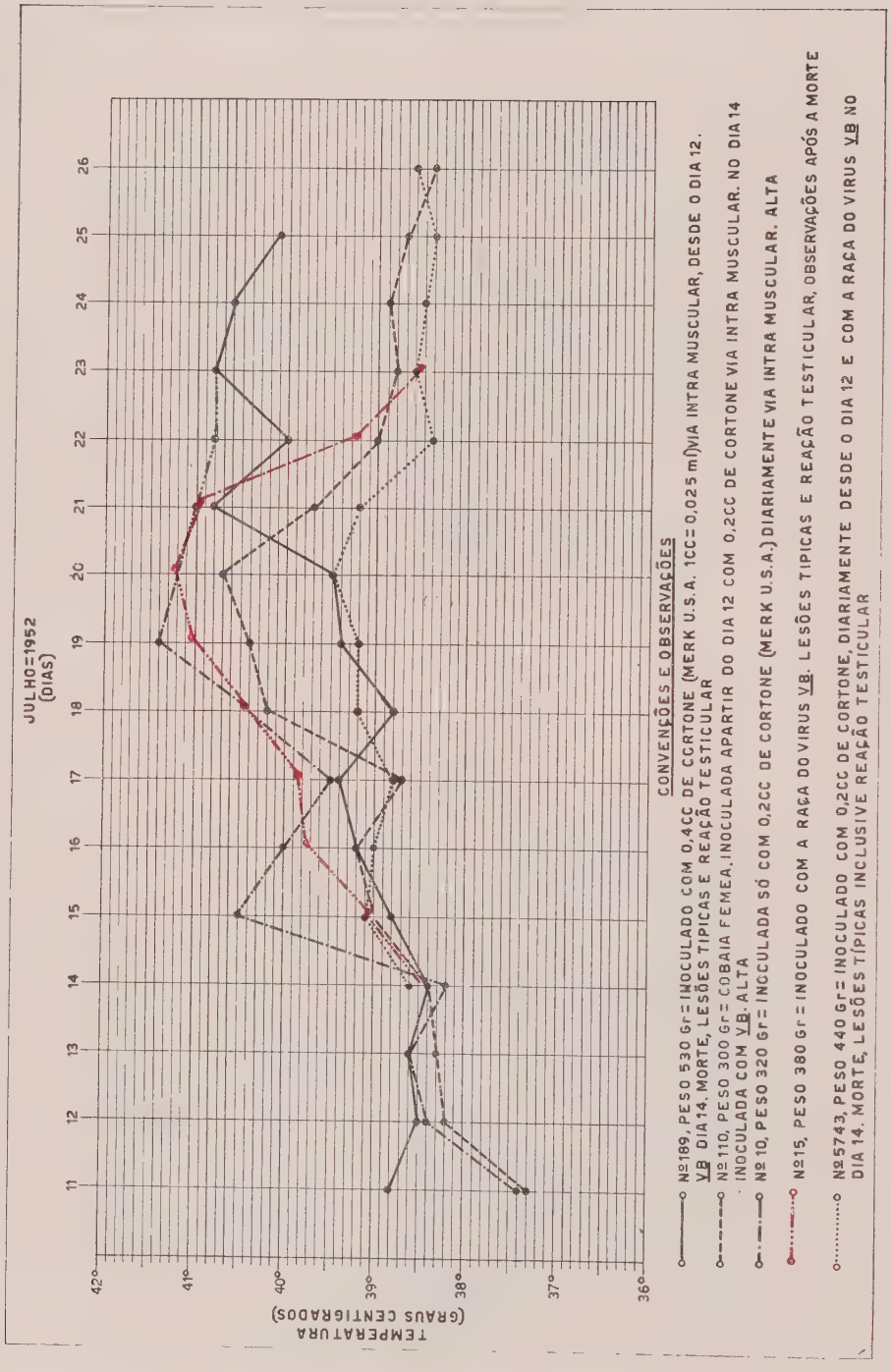

JULHO=1952
(DIAS)
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
TEMPERATURA
(GRAUS CENTIGRADOS)
42°
41°
40°
39°
38°
37°
36°
CONVENÇÕES E OBSERVAÇÕES
Nº189, PESO 530 Gr= INOCULADO COM 0,4CC DE CORTONE (MERK U.S.A. 1CC= 0,025 m) VIA INTRA MUSCULAR, DESDE O DIA 12.
VB DIA 14. MORTE, LESÕES TIPICAS E REAÇÃO TESTICULAR
Nº 110, PESO 300 Gr= COBAIA FEMEA. INOCULADA APARTIR DO DIA 12 COM 0,2CC DE CORTONE VIA INTRA MUSCULAR. NO DIA 14
INOCULADA COM VB. ALTA
Nº 10, PESO 320 Gr= INOCULADA SÓ COM 0,2CC DE CORTONE (MERK U.S.A.) DIARIAMENTE VIA INTRA MUSCULAR. ALTA
Nº15, PESO 380 Gr= INOCULADO COM A RAÇA DO VIRUS VB. LESÕES TIPICAS E REAÇÃO TESTICULAR, OBSERVAÇÕES APÓS A MORTE
Nº5743, PESO 440 Gr= INOCULADO COM 0,2CC DE CORTONE, DIARIAMENTE DESDE O DIA 12 E COM A RAÇA DO VIRUS VB NO
DIA 14. MORTE, LESÕES TÍPICAS INCLUSIVE REAÇÃO TESTICULAR

Gráfico 12

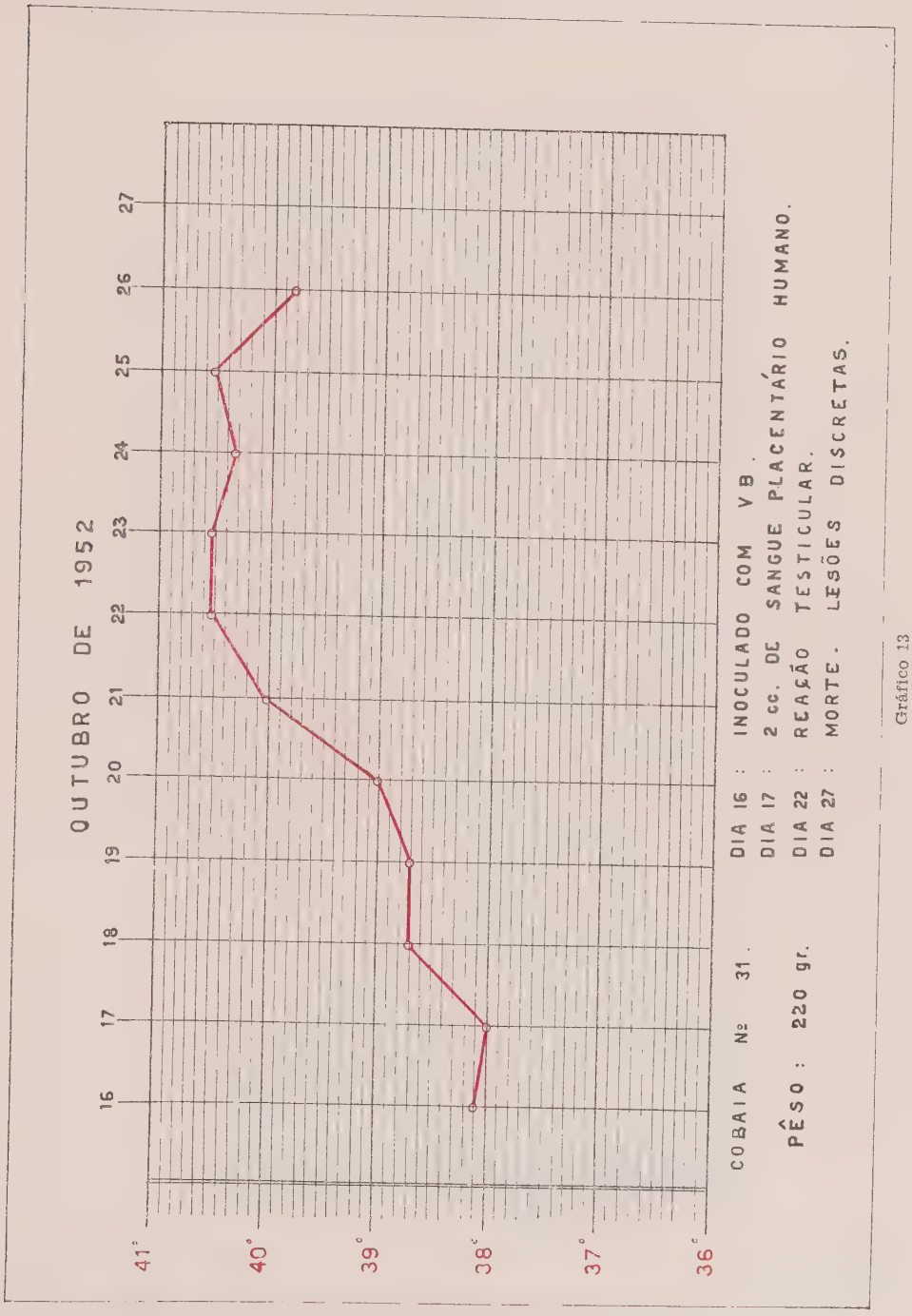

OUTUBRO DE 1952
16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27
41° 40° 39° 38° 37° 36°
COBAIA Nº 31.
PÊSO : 220 gr.
DIA 16 : INOCULADO COM V B.
DIA 17 : 2 cc. DE SANGUE PLACENTÁRIO HUMANO.
DIA 22 : REAÇÃO TESTICULAR.
DIA 27 : MORTE. LESÕES DISCRETAS.

Gráfico 13

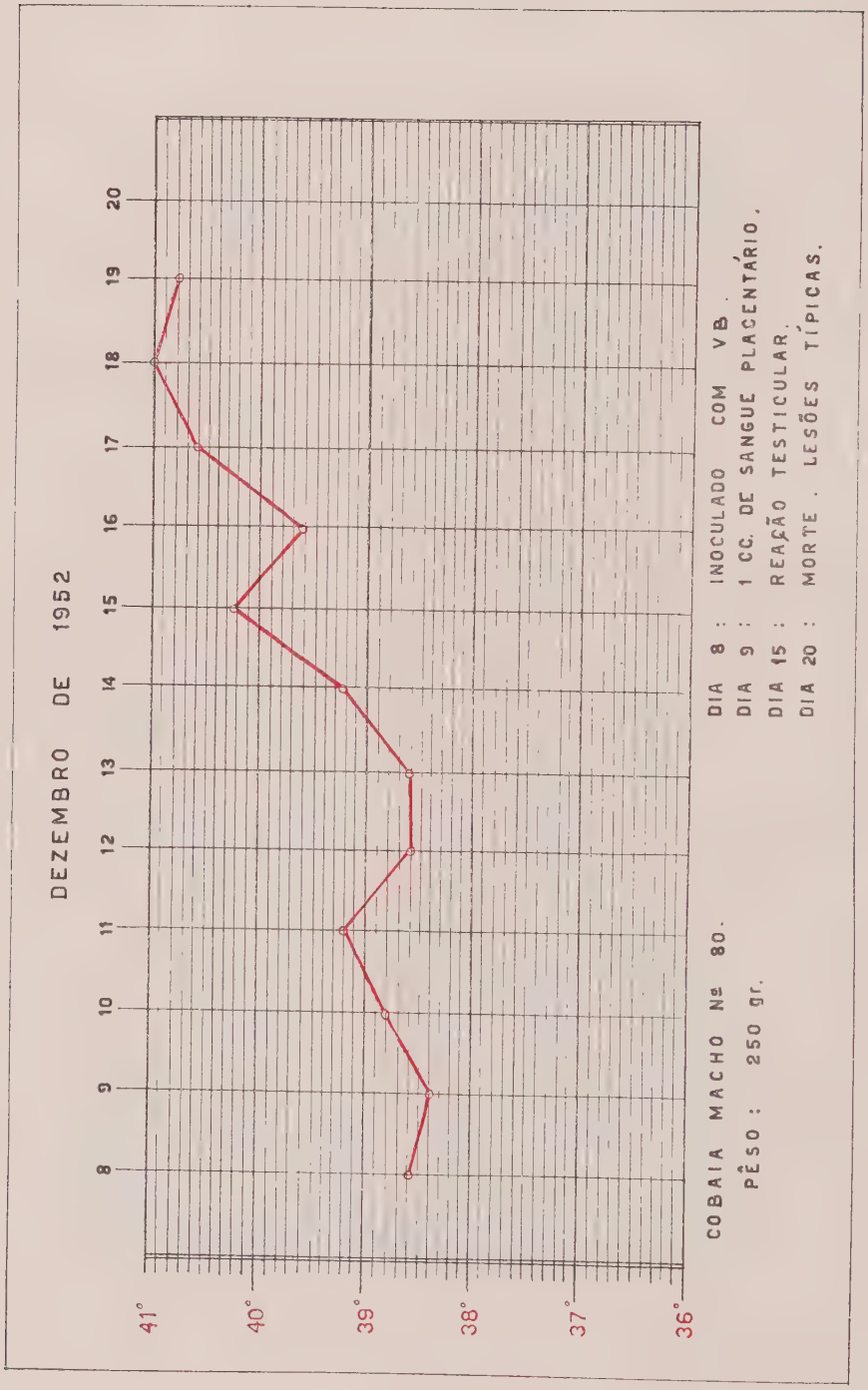

DEZEMBRO DE 1952
8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
41° 40° 39° 38° 37° 36°
COBAIA MACHO Nº 80.
PÊSO : 250 gr.
DIA 8 : INOCULADO COM VB.
DIA 9 : 1 CC. DE SANGUE PLACENTÁRIO.
DIA 15 : REAÇÃO TESTICULAR.
DIA 20 : MORTE . LESÕES TÍPICAS.

Gráfico 14

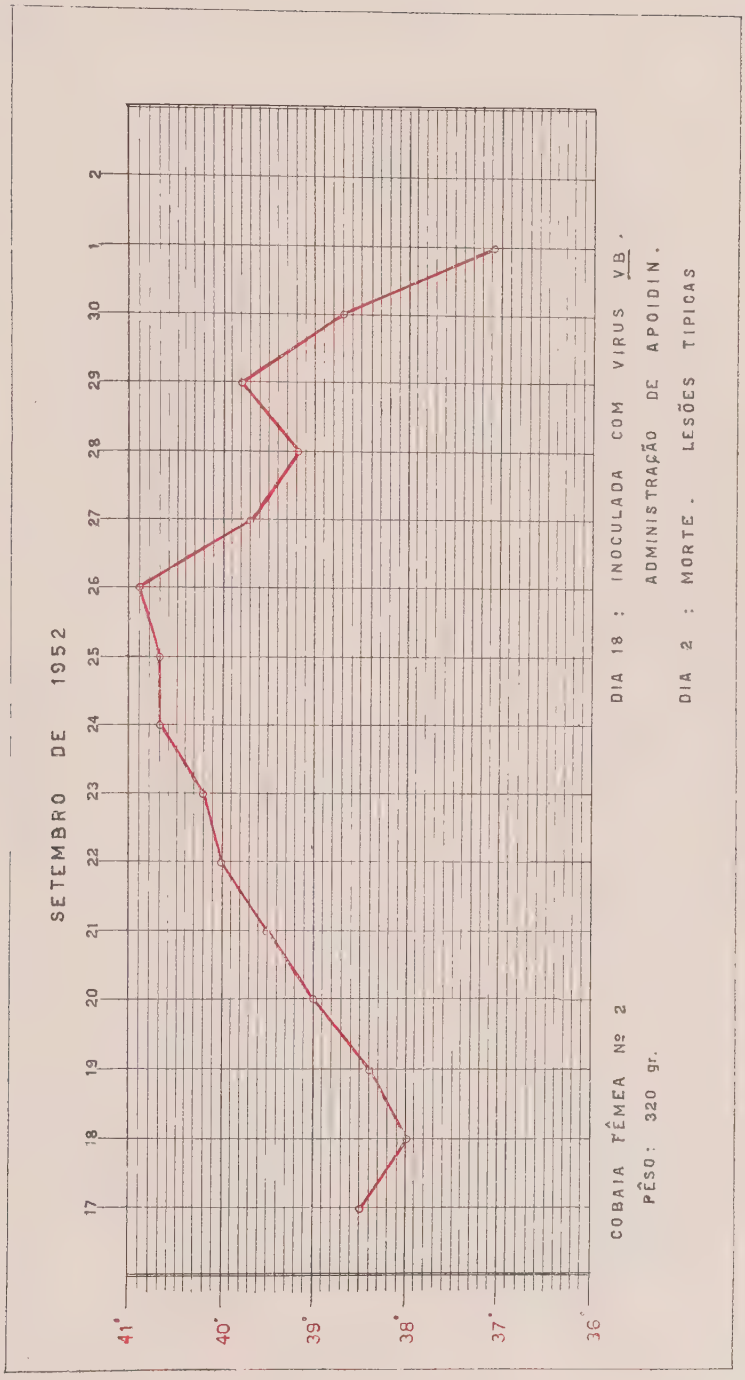

SETEMBRO DE 1952
17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 1 2
41° 40° 39° 38° 37° 36°
COBAIA FÊMEA Nº 2
PÊSO: 320 gr.
DIA 18 : INOCULADA COM VIRUS YB.
ADMINISTRAÇÃO DE APOIDIN.
DIA 2 : MORTE. LESÕES TIPICAS

Gráfico 15

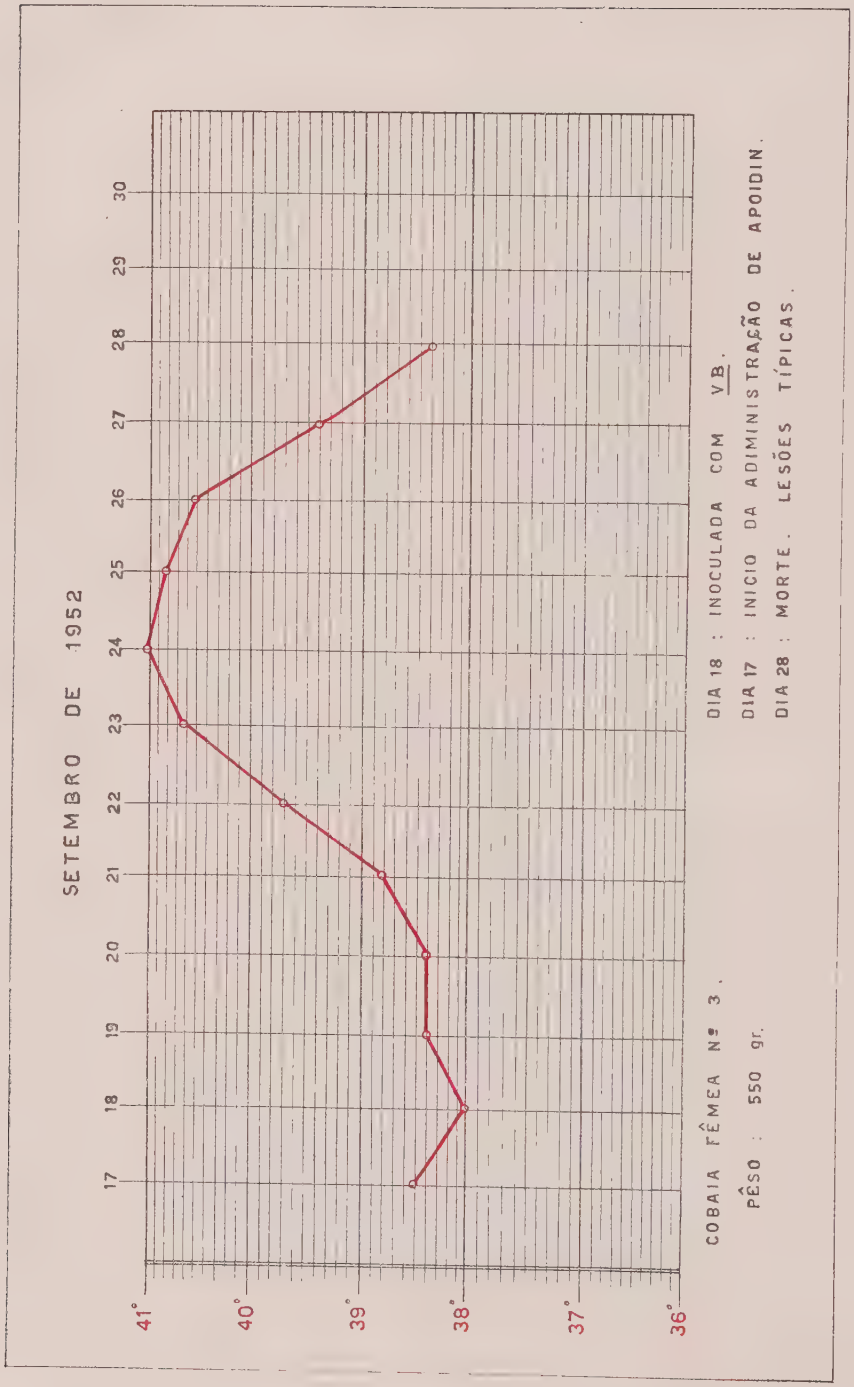

SETEMBRO DE 1952
17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
41° 40° 39° 38° 37° 36°
COBAIA FÊMEA Nº 3.
PÊSO : 550 gr.
DIA 18 : INOCULADA COM VB.
DIA 17 : INICIO DA ADIMINISTRAÇÃO DE APOIDIN.
DIA 28 : MORTE. LESÕES TÍPICAS.

Gráfico 16

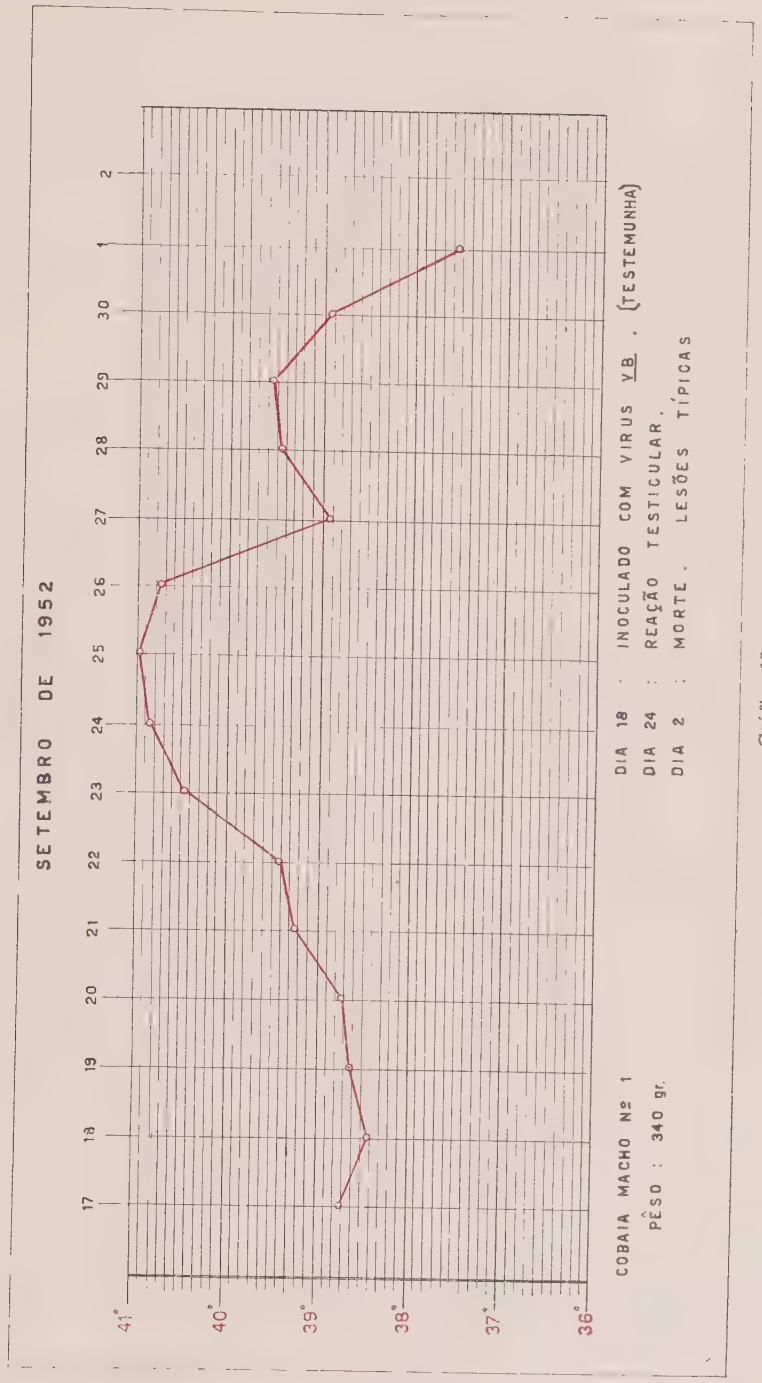

SETEMBRO DE 1952
17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 1 2
41° 40° 39° 38° 37° 36°
COBAIA MACHO Nº 1
PÊSO : 340 gr.
DIA 18 : INOCULADO COM VIRUS YB . (TESTEMUNHA)
DIA 24 : REAÇÃO TESTICULAR.
DIA 2 : MORTE . LESÕES TÍPICAS

Gráfico 17

SUMMARY

Human placentary total extract, Apoidin (Parke Davis — pre-hypophysoid sexual hormone), Cortone (Merck, U.S.A. — acetate of Cortisona) and citrated total blood of the human placenta, when injected as therapeutic treatment, had no beneficent influence in the evolution of the experimental diseas in the V.B. strain in the guinea-pig.

The pregnant female guinea-pigs, when inoculated with the V.B. strain often present a morbid evolution apparently more benignant than those not fecundated.

BIBLIOGRAFIA

BARCLAY, ALFRED E.; FRANKLIN, VENNETH J. and PSICHARD, MARJORIE M. L.
The foetal circulation. 1945. Charles C. Thomas Publ. Springfield, Illinois U.S.A.

HOUSSAY, BERNARD A.; LEWIS, JUAN T. & ORÉAS, OSCAR
Fisiologia Humana — Editora "El Ateneo". Buenos Aires.

JOHNSON, RICHARD H. & WILLIAM, J. HAINES
Extraction of Adrenal Cortex Hormone Activity from Placental Tissue — Science, 116(3017):456-457, October 24, 1952.

JUNK, NORMAN J.; CROMARTIE, WILLIAM J. & WATSON, DENNIS W.
Effect of Cortisone on Resistance of Rabbits to Infection with Salmonella typhosa. — Bacteriological Proceedings 1952. The Society of American Bacteriologists, pág. 73.

LADISLAS, L. L.
La Semaine des Hopitaux. Paris, France. 28 Fev. 1952.

PATTEN, BRADLEY M.
New Human embryology. 1946. Philadelphia. The Blakiston Company. Toronto.

SENECA, HARRY & ROCKENBACH, JOYCE
Fatal Trypanosoma cruzi Infection in the White Rat. — Science, July 4, 1952. Pág. 14.

STEWART, H. L. JR.
Am. J. Obst. and Gynec., 1:990. 1951.

Contribuição ao conhecimento da melhor terapêutica curativa do tifo exantemático no Brasil (doença de Piza, Meyer e Gomes) *

por

Octavio de Magalhães

(Com 4 gráficos e 1 quadro)

Em 18 anos de trabalhos, tentamos numerosas terapêuticas curativas das formas graves do tifo exantemático neotrópico entre nós.

A terapêutica era, afinal, o término de estudos prolongados e aprofundados da doença exantemática de tão grave aspecto clínico em nosso País. Encerraríamos, destarte, uma longa e não pequena labuta para esclarecer um dos mais dramáticos capítulos da patologia humana na região neotrópica.

Quando com o emprêgo de uma droga parecia estarmos trilhando o caminho certo, para logo surgia uma série de insucessos reais, a qual nos vinha mostrar que a nossa esperança tinha sido vã.

Na Monografia n.º VI do Instituto Oswaldo Cruz (1953), sôbre doenças do grupo Tifo exantemático, compendiamos quasi tudo o que foi feito sôbre a matéria. É claro que os pormenores recentes lá não se poderiam encontrar, pois aquele trabalho foi entregue para publicação em 1946!

No esclarecimento do papel real de uma qualquer terapêutica, devemos procurar sempre nos ater a fatos concretos. De um modo geral, as formas graves do Tifo exantemático neotrópico entre nós, deixavam não raro escapar 16 a 18% dos pacientes com qualquer terapêutica, ou melhor, apesar da terapêutica. Em verdade, anos houve, em nossas mãos, em que morreram 100% dos doentes hospitalizados ou não com o mesmo quadro clínico para todos êles. Porque? Não é fácil a resposta.

---

* Trabalho do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Belo Horizonte. — Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina da U.M.G. — Apresentado ao X Congresso de Higiene, em Belo Horizonte, com mais 1 observação. Outubro 1952.

Maior virulência da raça V. B.? Condições atmosféricas que permitiam inoculação maciça da raça V. B.? Remoção de um grande número de indivíduos de zonas indemes para fócos ativos da doença? Seja como for, devemos gravar bem aquelas percentagens de cura, póde-se dizer expontâneas, antes de concluirmos com exatidão sôbre o efeito realmente benéfico de uma terapêutica curativa. Foi por isso que aguardamos ter em mãos um certo número de casos graves, para argumentar sôbre a matéria.

Já publicamos, sós ou em companhia de outros colegas, vários artigos sôbre a nova terapêutica. Hoje desejamos resumir em um quadro e dar a nossa opinião sôbre os resultados obtidos por esta nova via.

Num dos nossos trabalhos (1949-1950), na ausência da Terramicina que ainda não havia sido lançada no mercado, dissemos: "Diante do que fica exposto, aconselhamos o emprêgo principalmente da Aureomicina, em doses convenientes e também associadamente a Cloromicetina, na terapêutica das formas graves do tifo exantemático neotrópico no Brasil. É claro que essa medicação não exclúe as demais, etc."

Êsse último anti-biótico (Cloranfenicol), empregamos hoje com muito cuidado, pela ação já registrada sôbre elementos da formação sanguínea. Êle tem, sem dúvida, uma ação nítida sôbre a doença exantemática e os fatos que hoje trazemos, confirmam esta tése, sem dúvida alguma. É bem de se ver que em muitos casos a Cloromicetina foi empregada pelo diagnóstico justificavel, no início da doença, de febre tifoide. Esta confusão, aliás, foi o maior escôlho que impediu a identificação em Minas e quiçá no Brasil, há mais tempo, do Tifo exantemático neotrópico entre nós. Seja como for, as observações da terapêutica nas fórmas graves pela Cloromicetina são realmente expressivas na sua ação benéfica.

Com o aparecimento da Terramicina, porém, o problema da terapêutica melhorou consideravelmente e pensamos mesmo que resolveu definitivamente essa questão. É necessário assinalar que, às vezes, há necessidade de associar os antibióticos. No Tifo exantemático neotrópico, encontramos frequentemente inflamações purulentas, glandulares ou não, pneumonias, etc. A ação conjugada por exemplo, da Penicilina nestes casos, é realmente notável, qualquer que seja o método fundamental da terapêutica empregada. É o que se apura também com o sarampo.

Nós já havíamos mesmo recomendado, excluindo qualquer ação específica, o emprêgo da Penicilina nos casos da doença exantemática neotrópica.

Na doença humana, forma grave, comum, pulso e temperatura cáem em lise, salvo nas vésperas ou dia da morte. Vemos então traçados térmicos semelhantes aos da doença experimental em cobaios e rhesus.

No tratamento pela Terramicina, a queda da temperatura e do pulso dá-se, de regra, em crise. Quando há, porém, um processo intercurrente, como se póde ver numa das observações hoje publicadas, pulso e temperatura cáem em lise, à medida que o processo inflamatório vai sendo dominado: os traçados que publicámos pela comunicação do V Congresso Internacional de Microbiologia de Petrópolis (1950 — 18 de Agosto) e no "Brasil Médico" de Setembro de 1950 demonstram claramente a especificidade da Terramicina na terapêutica do Tifo exantemático neotrópico entre nós. O emprêgo da Terramicina pela via intra-muscular ou intra-venosa, os resultados foram da mais alta valia não só pelas consequências, como pela pequena quantidade da droga necessária. Ao invéz de 15 ou 16 gramas, bastavam não raro 2 ou 3 para a cura do paciente.

Empregávamos a Terramicina pela via oral em cápsulas de 250 miligramas de hora em hora, até 16 cápsulas e após uma cápsula da mesma quantidade de 3 em 3 horas, ininterruptamente, noite e dia, até 2 dias após a queda da temperatura.

Pela inoculação dávamos 60 centigramas da droga, dissolvidos em Retentol ou água distilada esterilizada, de 12 em 12 horas e 250 mg, via oral, para auxiliar a terapêutica, até 48 horas após a queda da temperatura.

Do quadro que junto publicamos, podemos tirar as seguintes conclusões:

1.º — Ao todo, tivemos 34 casos nas formas graves, comuns do tifo exantemático neotrópico no Brasil.

2.º — Dêsses, 16 foram tratados pela Aureomicina e morreram 5 ou sejam 31,25%.

3.º — 15 foram tratados pela Terramicina e 1 morreu, ou seja, 6,6%.

4.º — Foram poucos os casos tratados só pela Cloromicetina, para que se possa tirar uma conclusão acertada. Para nós, todavia, foram expressivos.

O caso de morte, tratado pela Terramicina, não deveria talvez entrar na nossa estatística, pois o doente permaneceu no Hospital Cícero Ferreira, apenas 7 horas, tempo medeiante entre a entrada e a morte, tendo tomado pela via oral, apenas 1 grama e pouco da droga.

Em falta de Terramicina, está claro, devemos empregar a Aureomicina. Aliás, as duas fórmulas extruturais químicas, dêstes 2 antibióticos são muito parecidas mas, ao meu ver, favoráveis à Terramicina. Faltando ambos, deve-se recorrer à Cloromicetina.

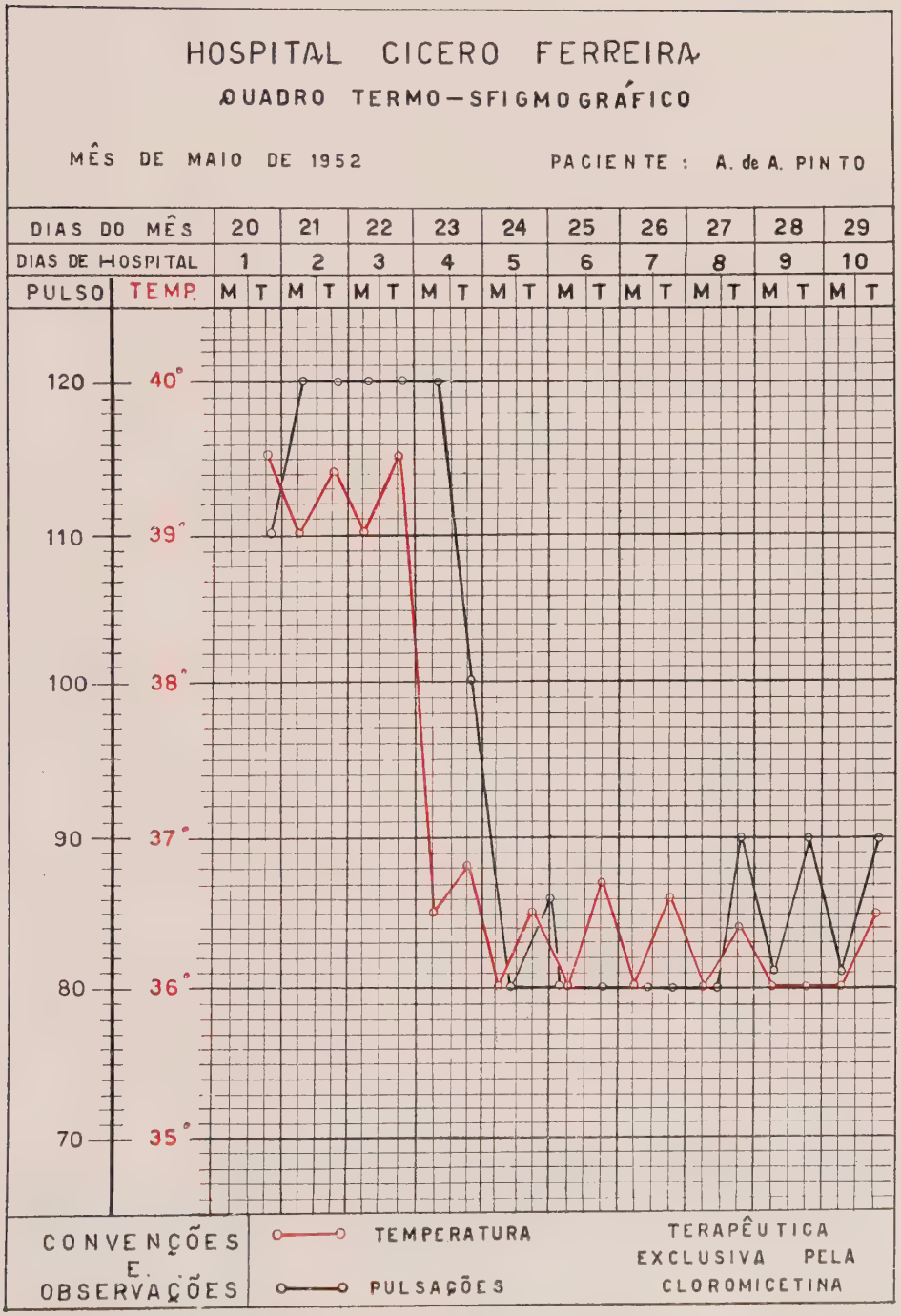
ANTIBIOTICOS	Dias da doença	Insulamento do virus em cobaios (*)	Resultados	Observações
1 — Aureomicina	?	Não foi feito	Morte	
2 — »	6.º	» » »	Alta curado	
3 — »	5.º	» » »	» »	
4 — »	8.º	» » »		
5 — »	?			
6 — »	8.º	+	» »	
7 — »	5.º	+ +	Morte	
8 — »	5.º/6.º	+ +	Alta curado	
9 — »	6.º	Não foi feito — R.F.C. 1/320 (+ + +)	» »	Caso benigno clinicamente
10 — »	6.º	+ +	» »	
11 — »	?	+ +	Morte	31,25% de mortes
12 — »	5.º	+ +		
13 — »	15.º	+ +	Alta curado	O sangue foi colhido já sem febre o paciente
14 — »	4.º	Não reagiram	» »	Caso comun benigno
15 — »	6.º	» »	Morte	
16 — »	?	Não foi feito	Alta curado	

(*) Á minha ausência de Belo Horizonte, deve-se a falta do insulamento do virus em cobaios, nestes casos. O síndromo clínico era, porém, clássico.

ANTIBIOTICOS	Dias da doença	Insulamento do virus em cobaia	Resultados	Observações
1 — Terramicina	3.º	+ +	Alta curado	
2 — »	6.º	+ +	»	
3 —	2.º	+ +	»	
4 —	2.º	+ +	»	
5 — »	4.º	+		
6 — »	3.º	+ +		
7 —	?	+ +		
8 —	5.º	+ +		
9 — »	8.º	+		6.6% de mortes
10 — »	8.º	+ +	»	
11 — Terr. + Cloromicetina..	10.º	+ +	» »	
12 — Terr. + Penicilina.....	4.º	+ +	»	
13 — Terr. + Penic. + Clor.	11.º	+ +	» »	
14 — Terr. + Cloromicetina..	?	?	» »	
15 —			Morte	Este viveu apenas 7 horas no H.C.F.

ANTIBIOTICOS	Dias da doença	Insulamento do virus em cobaias	Resultados	Observações
1 — Cloromicetina	3.º		Alta curado	
2 —	1.º	?	» »	
3 — »	8.º	Weil-Felix 1/320 — O.X.19	»	Forma clássica grave

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



Hospital Cícero Ferreira

Doente internado em 25 de Setembro de 1952

V. A. Pereira. Moreno, 40 anos, casado, brasileiro, pedreiro, não vacinado, residente em Engenheiro Nogueira. Pais: A. Pereira e M. P. Pereira.

Anamnése: Informa que adoeceu de-repente, há 3 dias, com febre alta, dôres pelo corpo, cefaléia, calafrios. Diz ter sido picado, frequentemente pelos carrapatos.

Exame: Doente febril, prostrado, mas lúcido. Lábios sêcos, lingua sêca com expressa saburra branca. Conjuntivas oculares congestas. Abdome deprimido, indolor à palpação. Baço não palpável, se bem que fosse possível notar, pela percussão, o seu aumento. Fígado nos limites normais. Bulhas cardíacas bem audíveis em todos os fócos. Pulso rápido, fino, ritmado. Aparêlho respiratório normal. Dôres à compressão das massas musculares e exantema discretíssimo, de aspecto maculoso, nas nádegas. Temperatura e pulso, vide o gráfico junto.

Exames complementares:

Hemocultura	— estéril 72 horas a 37°
Inoculação do sangue em cobaio	— + +

Terapêutica:

TERRAMICINA — 60 centigramos dissolvidos em Retentol, de 12 em 12 horas, via intramuscular e 2 cápsulas de 250 miligramas, de 4 em 4 horas, via oral (dia 25).

PENICILINA — 200.000 unidades de 3 em 3 horas.

SÔRO FISIOLÓGICO — 500 cc sub-cutâneo.

SÔRO GLICOSADO HIPERTÔNICO — 40cc na veia, diariamente.

Alta curado

Hospital Cícero Ferreira

24/7/1952)

Doente J. A. da S. Filho. Brasileiro, pedreiro, branco, vacinado, 21 anos, solteiro. Residente em Vila Ipanema — Sanatório Minas Gerais, Ressaca. Pais — J. A. da Silva. Informa ter adoecido há 8 dias, sentindo cefaléia, dôres pelo corpo, febre, tremores de frio e epistaxes. Nega ter ido ao campo, pois a sua vida é estritamente doméstica ou citadínea.

Exame do doente: Aspecto geral de prostração. Delírio brando e após, intenso. Lábios fuliginosos, lingua úmida, branca ligeiramente no centro e vermelha nos bordos. Abdome meteorizado. Baço a 1 dedo para baixo do rebordo costal livre. Fígado aflorando o rebordo costal direito. Sinais de bronquite generalizada, principalmente à esquerda. Conjuntivas oculares fortemente congestas. Edema palpebral. Exantema papuloso e petequial, generalizado, principalmente nos braços e nas nádegas. Esfíncteres ligeiramente relaxados. Acentuada hiperestesia à compressão das massas musculares. Pulso e temperatura: vide gráfico junto. Pressões arteriais (V.L.) —13,5/8. Pulso rítmico, cheio, amplo. Diagnóstico ao entrar no Hospital: Caso suspeito do grupo coli-tífico.

Exames complementares:

Widal { T = 0 ; A = 40 ; B = 20 ; C = 160

Nota: A Saúde Pública vacinára contra a febre tifoide, todos os membros da família e mesmo a Vila toda, na suposição de se tratar de febre tifoide.

Inoculação do sangue em cobaio = ++
Hemocultura — Estéril 72 horas a 37°

Diagnóstico: Caso grave comum do Tifo exantemático neotrópico.

Terapêutica: TERRAMICINA * — 60 centigramas dissolvidos em Retentol, de 12 em 12 horas, via intra-muscular e 250 miligramas de 4 em 4 horas, via oral. Nicordamin e depois Digaleno, de 12 em 12 horas. Sôro glicosado isotônico — 500cc e 500cc de sôro fisiológico sob a pele. Sôro glicosado hipertônico — 40cc na veia, diariamente.

Nota: Fizemos, no fóco, um largo inquérito epidemiológico. Era zona praticamente rural. Foi o único caso apreciável na família ou na Vila. O cão da residência está indene da doença.

Hospital Cícero Ferreira

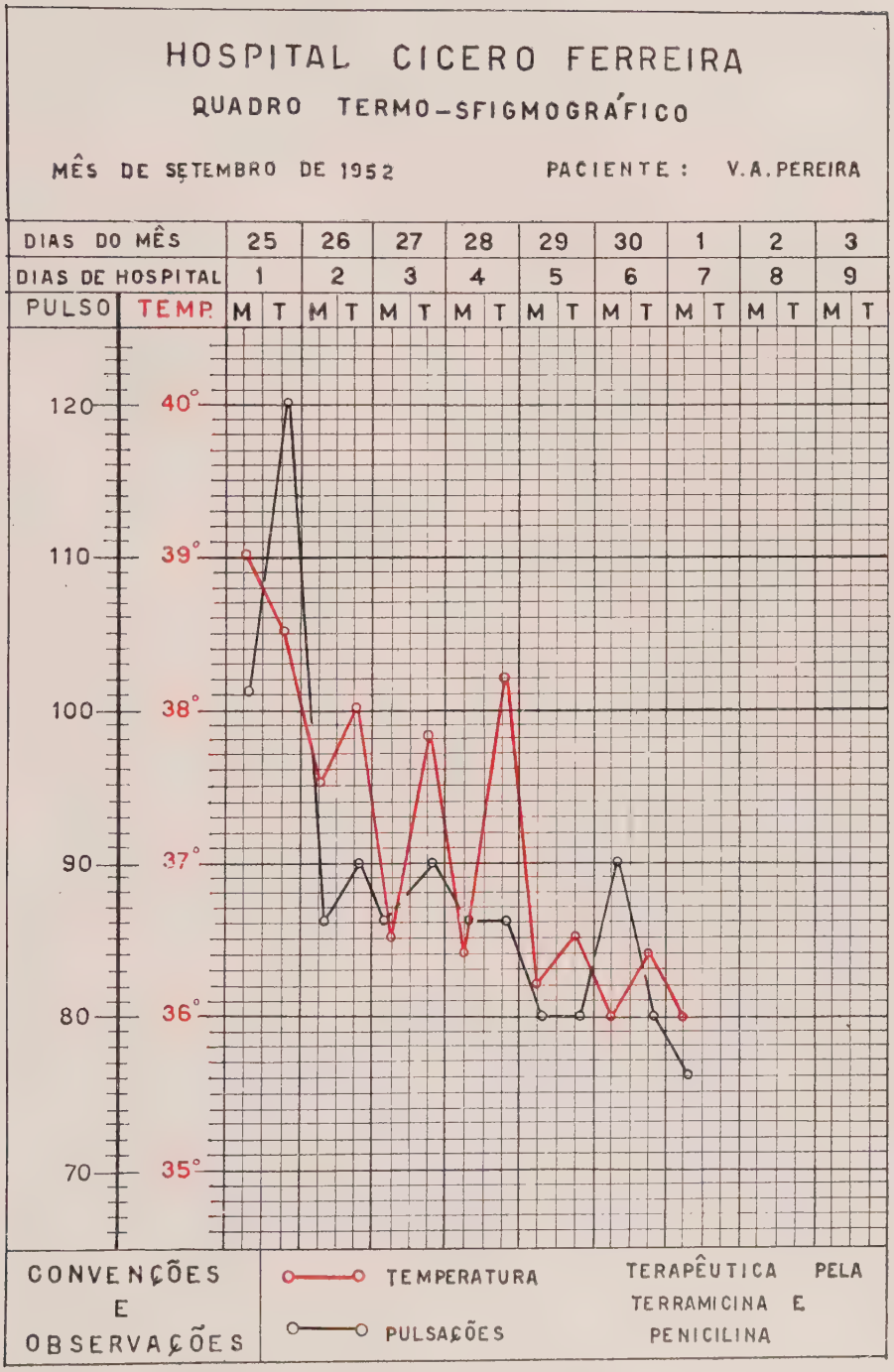
(20/5/1952)

A. de A. Pinto. Indivíduo preto, 53 anos de idade, casado, brasileiro, lavrador em Santa Luzia. Pais: R. J. dos Santos e R. M. de Jesús.

Anamnése: Adoeceu há 3 dias, com cefeléia, febre elevada, dôres pelo corpo e vômitos. O exame mostrou: paciente prostrado, febril,

* Dia 24.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



lingua sêca, saburrosa. Pulso rápido e amplo, ritmado. Bulhas cardíacas normais. Pressões arteriais (V.L.) — 130/80. Aorta palpável na fúrcula external. Abdome tenso, doloroso à palpação. Fígado e baço não palpáveis. A côr não permitiu distinguir exantema. Dôres fortes à palpação das massas musculares.

Diagnóstico: Caso suspeito de febre tifoide.

Exames complementares:

Urina:

Albumina	—	+++
Pseudo-albumina	—	+ +

Sedimento:

Cilindros granulosos	—	+++
Hemacias	—	4 por campo
Piocitos	—	1 por campo
Células renais	—	+

Weil — Felix	—	negativo para O.X.19
Widal	—	negativo
Hemocultura	—	estéril 72 horas a 37°
Cobaios	—	+ +

Exame de uréia sanguínea =	28/5/52	—	105mg%
	2/6/52	—	200mg%
	6/6/52	—	212mg%
	11/6/52	—	105mg%

Vide adiante gráfico térmico e do pulso.

Evolução: paciente com delírio intenso e vômitos. No dia 22 de Maio o delírio foi tão intenso que o doente pulou pela janela e fugiu, sendo necessário recorrer à Polícia para prendê-lo. Teve que ser fixado ao leito, para evitar nova fuga.

Diagnóstico: Caso grave, comum, do Tifo exantemático neotrópico no Brasil.

Terapêutica:

CLOROMICETINA — 1 cápsula de 250 miligramas de 2 em 2 horas. Ao todo tomou 6 vidros, ou sejam, 36 gramas da droga.

SÔRO GLICOSADO na veia, hipertônico, 40cc.

SÔRO GLICOSADO ISOTÔNICO, 500 cc sob a pele.

NICORDAMIN, 20 gotas 3 vezes ao dia.

BROMAL, 2 comprimidos diariamente.

COMPLEXO B LORENZINI, 1 cápsula diariamente.

Sonifeno

Alta curado

Hospital Cícero Ferreira

24/12/1952

Doente J. Belo. 13 anos, moreno, brasileiro, natural de Crucilândia (Bonfim do Paraopeba). Escolar, morador à R. Conde Linhares, 923, bem acima do bairro de Lourdes, em Belo Horizonte. Não vacinado. Mãe: A. de Jesús. A casa de moradia é dos avós.

Anamnése: Informou a mãe da criança que esta ía muitas vezes ao campo que cercava a residência e apanhava carrapatos, "fazendo lenha", se bem que no momento, pelas chuvas torrenciais, quasi não haja carrapatos no local. É o primeiro doente com esta moléstia, dos 5 filhos e marido, que moram na casa. Caíu do cavalo, machucando-se ligeiramente e banhava-se num córrego local. Adoeceu há 14 dias, com dores pelo corpo, tonturas, febre, alguma tosse, vômitos, delírio brando e epistaxes. O exantema apareceu há 7 dias. Inapetência, tendo sido tratado por um médico do local. Diz a mãe que o menino urina, sem querer, na cama.

Trouxe o diagnóstico, à entrada, de caso suspeito de febre tifoide.

Exame do doente: Doente prostrado, adinâmico, com verdadeiro torpor, com exantema polimorfo, principalmente petequial, cobrindo todo o corpo, face, pés, plantas e palmas, acentuando-se nas nádegas e ante-braços. Conjuntivas fortemente congestas. Face edemaciada, inclusive pálpebras. Temperatura: vide gráfico junto. Baço a 1 dedo do rebordo costal livre. Fígado, 1 dedo abaixo do rebordo costal, ligeiramente endurecido. Ambos dolorosos à palpação. Lingua vermelha, sem saburra. Sinais de bronquite nos pulmões. Ventre timpânico. Pressões arteriais (V.L.): 9,5/5 (24/12/52). No dia 28, foi de 11,5/5 e no dia 31 de Dezembro, de 11,5/7. Pulso fino, taquicárdico, com frequentes extra-sístoles. Galope na ponta. O doente apresentava uma tumefação dolorosa da parótida esquerda, não podendo por isto, abrir convenientemente a bôca. Afirmára a mãe que, há 1 mês, tivera "cachumba", mas ficára inteiramente bom. Apresentava congestão das amígdalas e do faringe. Reflexos, sem coisa digna de nota. Anemia. Mucosas fortemente descoradas. Fezes normais.

Exames complementares:

Reação de Widal (feita no Serviço de Saúde Pública): — Positiva para o antígeno H (*Nota:* não veio explicado o título da aglutinação).

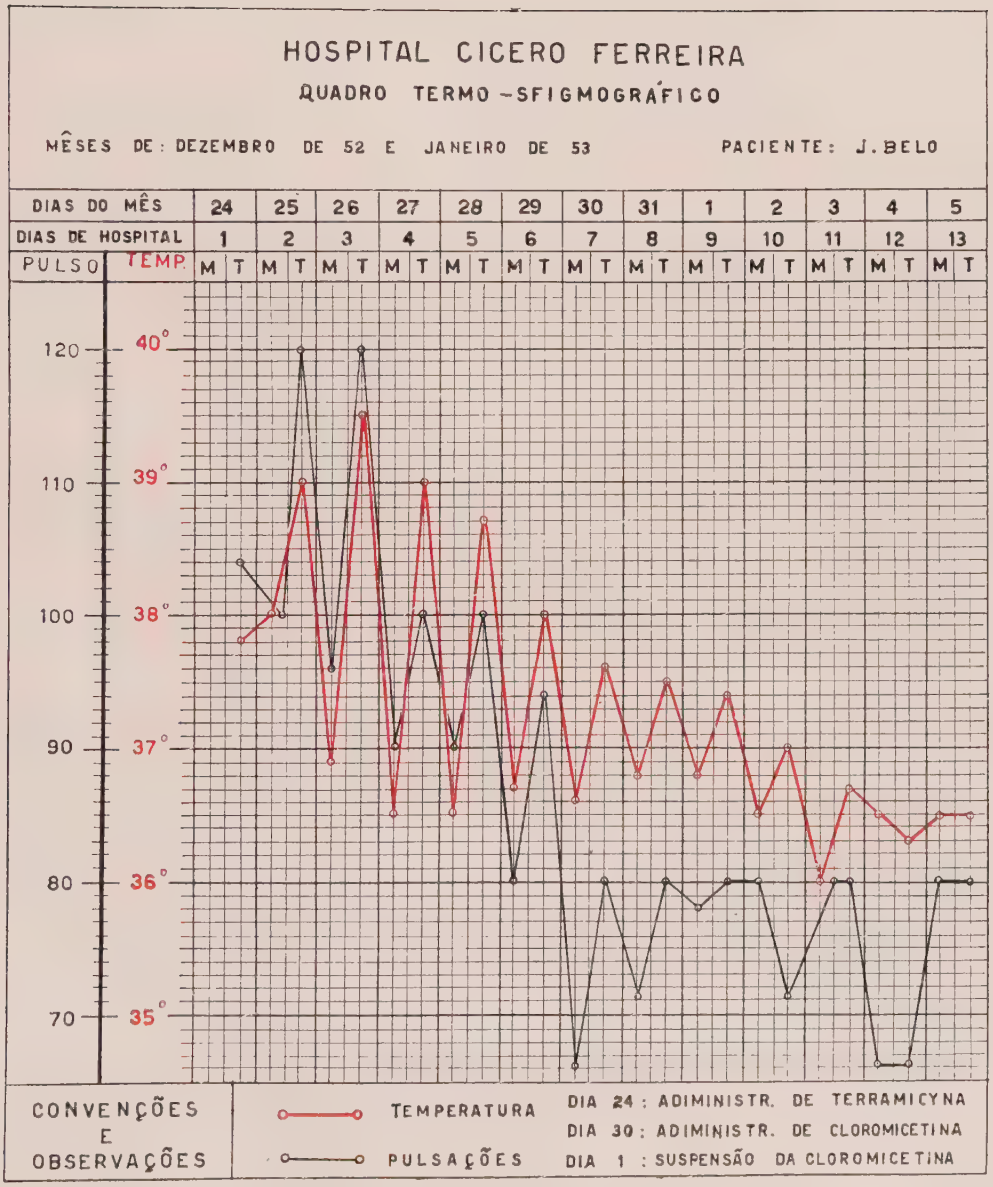
No dia 28 de Dezembro o Widal foi repetida no H.C.F., com o seguinte resultado: Th = 1/640; To = 0.

Em 28 de Dezembro, repetimos o Widal: T — 1/80;
A = 0
B = 1/20
C = 0

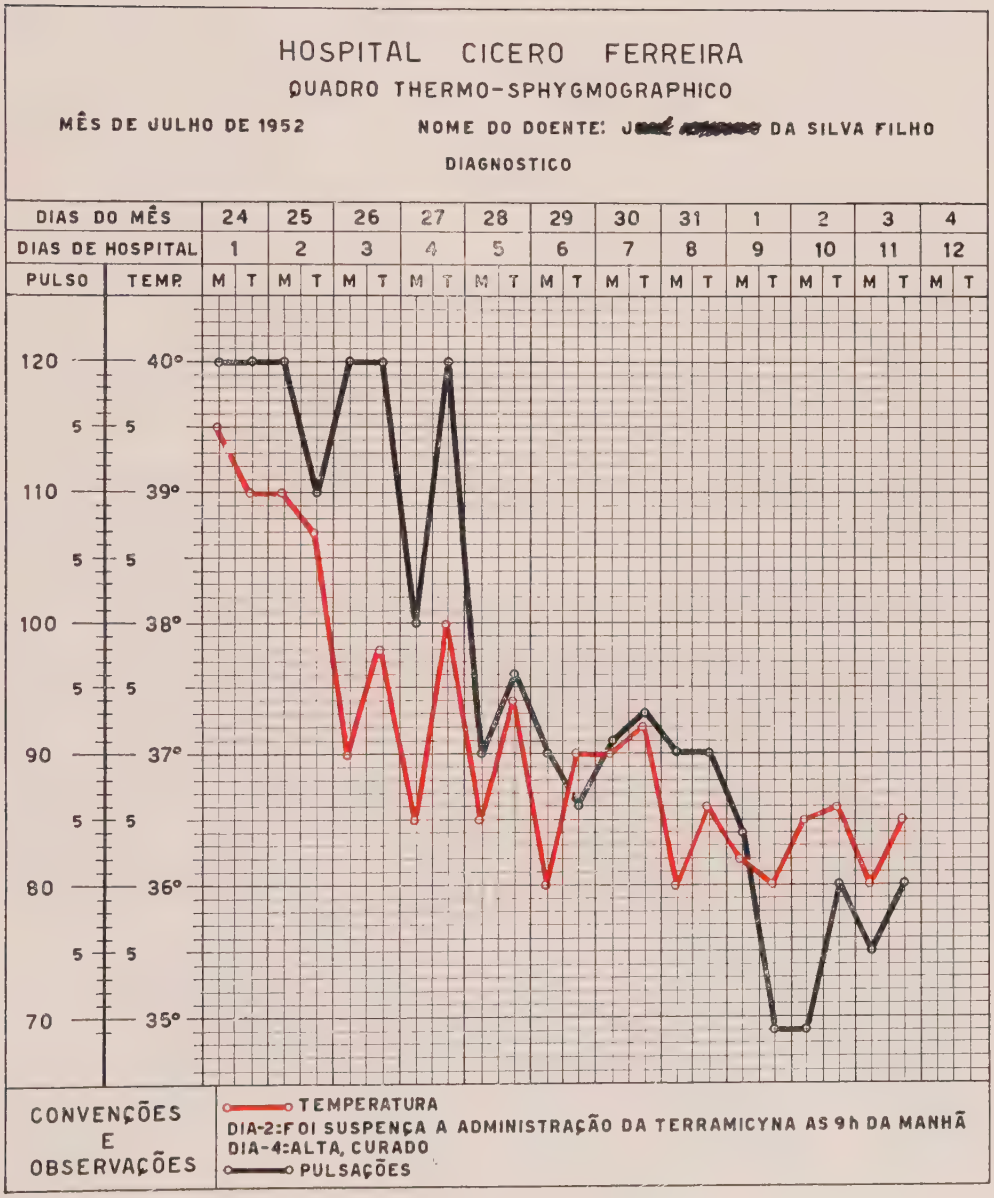
Weil-Felix: O.X.19 — 1/160
H.X.19 — 1/40.

Hemocultura estéril 72 horas a 37°.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



Exame do líquido céfalo-raqueano: a punção não revelou pressão anormal. Líquido com aspecto de cristal de rocha. O exame mostrou: albumina (Nissl): 0,25gr%. — . Citrometria: 3 elementos por mm3. Bacterioscopia: negativa . — . Cloretos: 700mg% (Whitehorn) — Glicose: 105mg%. (Folin-Wú).

Exame de urina: Albumina — +

Sedimento — Cilindros granulosos — +++

Cilindros de piocitos	—	1 por lâmina
Piocitos	—	+ +
Células renais	—	+
Células das vias inferiores urinárias	—	+
Germens	—	+

Inoculação em cobaios (do sangue total e do líquido céfalo-raqueano) — ++

Diagnóstico: Forma grave, comum, do Tifo exantemático neotrópico.

Terapêutica: O médico que o atendera em casa, dera Penicilina, Streptomicina e Sulfa e, como se agravasse o seu estado, recorreu à Saúde Pública.

Tratamento no Hospital Cícero Ferreira: TERRAMICINA — 60 centigramas de 12 em 12 horas, dissolvidos em Retentol e, pela bôca, 250 miligramas de 4 em 4 horas. CARDIASOL líquido: 20 gotas 2 vezes ao dia. PIRAMIDO: 1 cápsula por dia. PENICILINA: 500.000 unidades de 12 em 12 horas. SÔRO FISIOLÓGICO: 500cc sob a pele, diariamente. SÔRO GLICOSADO HIPERTÔNICO: 40cc na veia. No dia 30 de Dezembro, demos CLOROMICETINA, já em franco declínio da temperatura, alternando 1 cápsula de 250mg de Cloromicetina com 1 de Terramicina. No dia 1.º de Janeiro de 1953, foi suspensa a Cloromicetina. A Penicilina foi suspensa no dia 2 e no dia 3, a Terramicina. A pele do doente, do dia 5 em diante, começou a descamar intensamente.

Tomou 500mg de Terramicina injetável e 11 gramas (cápsulas de 250mg) de Terramicina, via oral, 3 gramas de Cloromicetina e 8 milhões de unidades de Penicilina. O processo inflamatório da glândula parótida cedeu lentamente, bem como a febre e o pulso, que caíram em lise. Logo após a parada dos antibióticos, iniciamos a terapêutica com um reconstituinte sanguíneo. A época em a qual foi instituido o tratamento específico justificava plenamente a intensidade da terapêutica.

Alta curado.

RESUMO

O autor diz ter tentado a terapêutica do Tifo exantemático neotrópico entre nós, por várias maneiras, durante cêrca de 18 anos, sem que tivesse obtido resultado apreciável.

Agora, porém, pensa que a questão está resolvida com o emprêgo apropriado da Terramicina. Antes dêsse antibiótico aparecer, aconselhára a Aureomycina e a Cloromicetina. Prefere, porém, agora a Terramycina, via oral e sub-cutânea ou intra-muscular.

Diz o autor que com ou sem terapêutica, as formas graves do Tifo exantemático neotrópico no Brasil deixavam escapar 16 a 18% dos doentes.

Foi por isso que agora, reunindo cêrca de 34 casos das formas graves da doença, resolveu publicar o quadro que se segue. Nele vemos que dos doentes tratados com a Aureomicina, morreram 31,25% e os tratados com Terramicina, apenas 6,6%. Deve assinalar que o doente tratado com Terramicina que faleceu, esteve apenas no Hospital Cícero Ferreira, 7 horas antes da morte.

Descreve 4 observações clínicas da doença.

SUMARY

The author states that, for about 18 years, he has attempted the therapeutica of Neotropic Exanthematic typhus in many years with no appreciable result.

Now, however, he thinks the question is solved by the proper use of Terramycine. Before this antibiotic appeared he advised Aureomyof Terramycine. Before this antibiotic appeared he advised Aureomycine and Chloromicetine. He prefers, however, Terramycine, via the mouth, sub-cutaneous or intra-muscular.

The author says that with or without therapeutics 16 to 18 per cent of the serious cases of Neotropic Exanthematic Typhus in Brazil, recovered.

For tis reason, bringing together about 34 cases of the serious forms of the disease, he resolved to publish the following table. Here we see that of the patients treated with Aureomycine, 31,25% died and of those treated with Teramycine, only 6,6%.

It whould be noted that the Terramycine patient was in the Hospital Cícero Ferreira, only seven hours before he died.

The author gives four clinical reports of the disease.

Notas de ixodologia

V — A propósito da validade de algumas espécies do gênero **Amblyomma** do continente Americano **(Acari: Ixodídoe)**

por

Henrique B. Aragão e **Flavio da Fonseca**

a) *Amblyomma cajennense* (Fabricius) 1787.

Entre os representantes da fauna ixodológica americana, o *Amblyomma cajennense* é certamente dos mais importantes sob vários aspétos.

Essa espécie possui variadíssimo parasitismo que inclui o homem, quase todos os mamíferos domésticos e silvestres e ainda várias aves e até batráquios e lacertídios. A distribuição geográfica da espécie é muito extensa e vai do sul dos Estados Unidos e Antilhas até a República Argentina.

Finalmente ainda possui essa espécie uma grande importância médica e veterinária por ser veiculadora provada da *Rickettsia* da Febre Maculosa, transmitida por carrapatos, existentes nas zonas rurais do Brasil e muito provàvelmente também, por ser a espécie que mais parasita os cavalos, da piroplasmose (nuttaliose) equina.

O homem e os animais silvestres são muito perseguidos pelo *Amblyomma cajennense* em qualquer das fases de sua evolução larvária, ninfal ou adulta, muito especialmente nas duas primeiras que, por se tornarem abundantíssimas na estação sêca e mais fria do ano, constituem uma praga justamente temida nas zonas rurais.

O primeiro autor que se ocupou dêsse ixodídeo sob o ponto de vista zoológico foi Fabricius que o descreveu com o nome de *Acarus cajennense* em 1787, designação esta que mudou em 1794, para *Ixodes cajennensis*. Em 1821 esta espécie foi descrita por Say com o nome de *Ixodes crenatus,* denominação que passou ulteriormente a sinonímia de *Amblyomma cajennense*. Em 1844 C. L. Koch passou a espécie de Fabricius para o gênero *Amblyomma* por êle criado, com a denominação de *Amblyomma cajennense,* que prevalece até hoje. Ao mesmo tempo descreveu Koch dois novos ixodídeos americanos aos quais deu os nomes de *A. mixtum* e *A. tenellum,* sendo o primeiro colocado na

sinonímia de *Amblyomma cajennense* por L. G. Neumann, em 1899, assim como o *Ixodes herrerae* que Dugès descreveu em 1887 e o *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888.

Em 1899 Neumann, por sua vez, deu o nome de *Amblyomma parviscutatum* à fêmea de uma espécie que êle considera próxima de *A. cajennense* e que se caracteriza, sobretudo, pelo escudo pequeno e uma redução proporcional dos seus demais característicos anatômicos.

Em trabalho de um de nós (Aragão), publicado em 1911, mostrámos que essa espécie de Neumann era apenas um *Amblyomma cajennense* proveniente de uma ninfa incompletamente alimentada e que, em consequência, ao se transformar, dera uma forma adulta fêmea de tamanho reduzido como é regra acontecer, sempre que as ninfas de qualquer espécie de carrapato caem ou são arrancadas do animal que parasitam incompletamente cheias de sangue, mas ainda com capacidade para se transformarem na forma adulta masculina ou feminina.

Tanto na natureza como nas criações de carrapatos, em laboratório, é êste o mecanismo mais comum que dá lugar ao aparecimento de exemplares de tamanhos muito diversos numa espécie de ixodídeo. Também a espécie do hospedeiro parece ter certa importância no aspeto do carrapato. *Amblyomma cajennense* quando encontrada parasitando a anta (Tapirus), adquire em geral, um desenvolvimento maior e seu escudo apresenta-se mais manchado de branco amarelado do que os especimens capturados em outros animais o que lhes dá, às vêzes, um aspeto um tanto diferente, à primeira vista. É porém no mais o mesmo *Amblyomma cajennense* e por isso não consideramos novas as espécies *Amblyomma finitimum* e *Amblyomma tapiri* da Dra. Tonelli Rondelli. Afora porém a robustez do ixodídeo e a maior zona colorida do escudo todos os demais elementos do seu corpo correspondem aos caracteres classicos da espécie. Tais variações são meramente individuais, não oferecendo tais exemplares nenhuma modificação da sua estrutura anatômica básica que justifique a criação de espécie nova. Ainda convém assinalar que exemplares de uma mesma espécie podem se apresentar mais ou menos desenvolvidos conforme a área geográfica de que provém. Assim o *Amblyomma fossum* Nn. que em geral nas zonas central e sul do Brasil, é um carrapato relativamente pequeno e de constituição delicada, na Amazônia apresenta exemplares grandes e robustos que, a primeira vista, simulam uma espécie diferente, sendo essa ocorrência talvez devida ao ser mais propício ao seu desenvolvimento o clima quente e úmido dessa região. É bom estarmos prevenidos contra tais ocorrências para não sermos levados a criar novas espécies sem necessidade, como tem sido o caso com o *Amblyomma cajennense* que é um carrapato muito sujeito a tais variações, donde a sua hoje numerosa sinonímia. O *Amblyomma versicolor* descrito por Nuttal e Warburton em 1908, por exemplo, foi colocado na sinonímia de *Amblyomma cajennense* por Neumann em 1911 e assim foi considerado por Robinson na sua monografia do gênero *Amblyomma*, em 1926; no entanto a Dra. Rondelli Tonelli ainda procura reabilitá-lo como uma boa espécie no seu trabalho de

1937, em desacôrdo com a escola ixodológica de Cambridge, onde foi descrito êsse carrapato.

A lista de sinônimos e alterações de nome de *Amblyomma cajennense* segundo L. E. Robinson em 1926, na sua clássica monografia dêsse gênero é a seguinte:

Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787).
Acarus cajennensis (Fabricius, 1787).
Ixodes cajennensis (Fabricius, 1794).
Ixodes crenatus Say, 1821.
Amblyomma tenellum Koch, 1844.
Amblyomma mixtum Koch, 1844.
Ixodes herrerae Dugès, 1887.
Amblyomma sculptum Berlese, 1888.
Amblyomma parviscutatum Neumann, 1899.
Amblyomma versicolor Nutt. e Warb, 1908.

Parecia que o assunto de nomenclatura do *Amblyomma cajennense* estivesse solucionado quando em 1937 apareceu o trabalho da Dra. Maria Tonelli Rondelli em que ela procura reabilitar as espécies *Amblyomma tenellum* e *Amblyomma mixtum* de Koch, o *Amblyomma sculptum* de Berlese, o *Amblyomma versicolor* de Nuttal e Warburton e ainda cria duas novas espécies *Amblyomma tapiri* e *Amblyomma finitimum* encontrados em material de *Ixodídeos* da Guiana Inglêsa colecionado pelo Professor Beccari, em anta (*Tapirus*), os quais não são diferenciáveis da espécie tipo de Fabricius senão por caracteres os mais variáveis no *Amblyomma cajennense*. No seu trabalho a Dra. Rondelli Tonelli se preocupa muito em assinalar diferenças de tamanho do escudo, de coloração, de presença ou ausência de placas quitinosas ventrais e com as ligações musculares dorso ventrais, com o aspéto e abundância das pontuações, com o tamanho dos espinhos do quarto quadril, sua curvatura e sua posição reta para trás, ou voltada para dentro ou para fora, caracteres êsses variáveis como se pode verificar quando se trabalha com abundante material dêsse ixodídeo, com exemplares vivos e conservados a sêco ou em líquidos e sobretudo quando se fazem criações numerosas dêsse *Amblyomma* no laboratório partindo da postura de uma única fêmea. Nessas criações é possível obter exemplares de diversos tamanhos, com o espinho do 4.º quadril voltado para dentro ou para fora, retos ou ligeiramente encurvados; com o escudo da fêmea com variações de tamanho e largura; machos com festões maiores ou menores, com ou sem pequenos prolongamentos ventrais; com diferenças no aspéto e coloração e pontuações mais ou menos abundantes, maiores ou menores e outras pequenas variantes. Não faltam porém o aspéto geral característico no macho e na fêmea, os espinhos nos quadris, a forma do rostro, a disposição clássica dos dentes no hipostômio, os tubérculos quitinosos na porção postero-interna dos festões, na fêmea, nem os pêlos amarelos claros e ligeiramente encurvados na face dorsal da fêmea nem os pêlos curtos e amarelados na face ventral do macho. A presença de pêlos

na face ventral do macho do *Amblyomma cajennense* parece ter escapado aos autores que se ocuparam com esta espécie que referem ser essa face glabra quando na realidade ela não o é completamente.

Por todos os motivos acima referidos não podemos concordar com a reabilitação dos diferentes Amblyommas citados pela Dra. Tonelli Rondelli e ainda somos de opinião que devem entrar para a sinonímia da espécie de Fabricius os *Amblyomma tapiri* e o *Amblyomma finitimum* considerados espécies novas pela autora italiana.

b) *Amblyomma beccari* Tonelli Rondelli, 1939 e
Amblyomma latepunctatum Tonelli Rondelli, 1939.

A Dra. Tonelli Rondelli estudando a coleção de ixodídeos da Guiana Inglêsa e de Trindade, feita pelo Professor Beccari descreve entre outras as duas espécies acima mencionadas. Pela leitura do trabalho da Dra. Rondelli e pelos desenhos apresentados nesse trabalho, somos de opinião que ambos êsses ixodídeos correspondem ao *Amblyomma scalpturatum* Neumann 1899. Em trabalho anterior já assinalamos serem idênticos a essa espécie o *Amblyomma myrmecophagium* Schultze, 1935 e o *Amblyomma brasiliense* var. *guianensis* Floch e Abonnenc, 1940, não só pela descrição de Neumann, como pelo exame do tipo da espécie *scalpturatum*, posta gentilmente à nossa disposição pelo Professor A. Brizard da Escola Nacional de Veterinária de Toulouse, como pela comparação com exemplares ♂ e ♀ de *Amblyomma brasiliense* var. *guianense* Floch e Abonnenc 1940, que nos foram amàvelmente doados pelo Dr. Floch, diretor do Instituto Pasteur da Guiana Francesa. Pelo conhecimento que hoje temos da espécie *Amblyomma scalpturatum* somos de opinião que *Amblyomma beccari* e *Amblyomma latepunctatum* são idênticos ao *A. scalpturatum* de Neumann. A espécie parasita de preferência a anta (*Tapirus*) e também o *Myrmecophagus tridactylus*, segundo Schulze. Temos na nossa coleção exemplares capturados em anta na Amazônia e outros apanhados em liberdade nas matas dessa região.

c) *Amblyomma romitii* Tonelli Rondelli, 1939.

É uma boa espécie bem característica encontrada na capivara (*Capibara guajanae*) por Beccari, como também o foi o *Amblyomma tasquei* Floch e Abonnenc, 1940, cujos exemplares também foram capturados em capivara na Guiana Francesa. Graças a gentileza do Dr. Floch pudemos examinar o *Amblyomma tasquei*.

Pela comparação entre essa espécie e o *Amblyomma romitii* Tonelli Rondelli, 1939 somos de opinião que são idênticos sendo muito característicos em ambos o aspéto do corpo, a pilosidade abundante e a estrutura dos peritremas, assim como as pontas duplas nos diversos quadris, etc.

A prioridade da espécie pertence porém *A. romitii* Tonelli Rondelli, 1939 de vez que a publicação da espécie *Amblyomma tasquei* Floch e Abonnenc foi feita em 1940, tornando-se por isso sinônima daquela.

d) *Amblyomma curruca* Schulze, 1936.

Em 1936 descreveu P. Schulze uma nova espécie de carrapato da Venezuela, a que deu o nome de *Amblyomma curruca,* proveniente de animal e localidade desconhecidos. Trata-se de uma espécie muito pequena que Schulze aproxima de *Amblyomma auriculare* (Conil, 1877).

Já há muito havíamos recebido do Professor Adolpho Lutz à volta da sua excursão científica a Venezuela 5 fêmeas de um carrapato, do qual, devido ao máu estado de conservação, não nos foi então possível estabelecer um diagnóstico preciso. Ùltimamente, porém graças à gentileza e alto espírito de cooperação do Dr. J. F. Torrealba, temos recebido vários exemplares de um pequeno carrapato de Cachicamo (*Dasypus novemcinctus*) que correspondem à descrição do *Amblyomma curruca* de Schulze, mas um exame aprofundado dêsses Ixodídeos nos demonstrou que o *Amblyomma curruca* Schulze 1936 é idêntico a *Amblyomma parvum* Aragão, 1908 devendo portanto seu nome cair em sinonímia da espécie que há muito descrevemos.

e) *Amblyomma deminutivum* Neumann 1899

Em 1899 descreveu o Professor L. G. Neumann com o nome de *Amblyomma deminutivum,* um ixodídeo encontrado em serpentes, proveniente do Brasil e da Colômbia. Trata-se de um carrapato muito semelhante a *Amblyomma dissimile* Koch e que se caracteriza segundo Neumann pela ausência do tubérculo interno no quarto quadril. Tendo recebido, graças à amabilidade do Professor A. Brizard da Escola National Veterinaria de Toulouse, o tipo de *Amblyomma deminutivum* foi-nos possível reconhecer a perfeita semelhança dêsse *Amblyomma* com o *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 e ainda observamos que com boa iluminação e um microscópio binocular podiam ser vistas, no quarto quadril, as duas pontas, tal como nos quadris de *Amblyomma dissimile,* embora o interno seja quase imperceptível e por isso tenha escapado a Neumann que, ao tempo em que trabalhou com ixodídeos, certamente não dispunha da aparelhagem microscópica perfeita de hoje.

Segundo pensamos *Amblyomma deminutivum* é uma forma reduzida (parviscutatum) de *Amblyomma dissimile,* certamente oriunda de ninfas incompletamente alimentadas daquêle *Amblyomma*. Em lotes de *Amblyomma dissimile* das nossas coleções existem exemplares do tipo *deminitivum* de Neumann nos quais só com muito boa iluminação e o uso de microscópio binocular, torna-se possível reconhecer a segunda ponta do quarto quadril. Nelas ocorrem também exemplares tìpicamente de dissimile nos quais o espinho interno da coxa IV falta totalmente, podendo portanto ser observada tôda a escala de desenvolvimento nesse espinho, chegando à aplasia completa.

Do que anteriormente ficou dito, resulta que *Amblyomma deminutivum* Neumann deve passar a sinônimo de *Amblyomma dissimile* Koch, 1844.

f) *Amblyomma nigrum* Tonelli Rondelli, 1939.

Esta espécie foi descrita pela Dra. Tonelli Rondelli, em 1939, baseada num único exemplar fêmea, cheio de sangue, apanhado em paca (*Coelogenys pacca*, atualmente *Cuniculus paca*) em outubro de 1931, pelo Professor Beccari. A coloração do exemplar era muito escura e daí o nome de *Amblyomma nigrum* dado a espécie, estando o rostro incompleto.

Somos de opinião pela leitura da descrição da Dra. Tonelli Rondelli e pelo exame dos seus desenhos que o *Amblyomma nigrum* é uma fêmea cheia de *Amblyomma pacae* Aragão, 1911. O fato de aparecer o exemplar com colorido quase prêto é consequente à sua conservação sendo comum o aparecimento de exemplares nigrum em muitas outras espécies de carrapatos das nossas coleções especialmente quando os carrapatos que já sugaram são conservados em líquidos com formol fraco ou quando os carrapatos ao serem colhidos ficam por um motivo qualquer sujeitos a umidade. A paca é um animal que quando perseguido pelos caçadores, frequentemente se lança à água e por isso os carrapatos retirados dela, em tais condições, vêm umedecidos e fàcilmente escurecem. Temos nas nossas coleções exemplares de *Amblyomma pacae* escurecidos, provàvelmente por terem sido colhidos em uma paca que fôra caçada na água de algum riacho, onde procurou abrigo como frequentemente acontece. Procuramos verificar o fato colocando em água exemplares secos de *Amblyomma pacae* com o seu colorido castanho claro normal e em pouco tempo êles tinham tomado um colorido escuro, confirmando nossa hipótese acima referida.

Em face da semelhança do *Amblyomma nigrum* Tonelli Rondelli com o *Amblyomma pacae* Aragão pelos demais caracteres, alguns com as costumeiras diferenças que ocorrem em exemplares da mesma espécie quando ainda não sugaram e depois de o terem feito, não temos dúvida em considerar a espécie da autora italiana como sinônima da nossa, estabelecendo-se assim a seguinte sinonímia.

Amblyomma pacae Aragão, 1911
sin. *Amblyomma fiebrigi* Robinson, 1911
sin. *Amblyomma nigrum* Tonelli Rondelli, 1939.

g) *Amblyomma brimonti* Neumann, 1913

Uma das últimas espécies de *Amblyomma* neotrópicos descritos na magnífica sequência de trabalhos de Neumann é o *Amblyomma brimonti* de que apenas a fêmea foi observada, não sendo conhecido o macho.

O material tipo provinha da Guiana francesa e tinha sido capturado sôbre uma tartaruga indeterminada e sôbre *Testudo tabulata*.

Ora, Koch já havia descrito em 1844 o *Amblyomma humerale*, de que são sinônimos o *Amblyomma gypsatum* Neumann, 1899 e o *Amblyomma longirostrum* Cooper et Robinson, 1908.

De *Amblyomma humerale* dispõem as coleções atualmente em estudo de vários lotes, inclusive da Guiana Francesa, onde foram colecionados pelo Dr. H. Floch.

A descrição do *Amblyomma brimonti* apresentada por Neumann coincide perfeitamente com o aspecto do *A. humerale* nos lotes de que dispomos, inclusive quanto ao número de fileiras de dentes do hipostômio, dos espinhos das patas e quanto à mancha tão característica do escudo dorsal que deu o nome à espécie.

Floch assinala machos parasitando um tatu e a coleção do Instituto Oswaldo Cruz dispõe de um lote enviado como tendo sido capturado sôbre *Coendu,* o que assinalamos com a devida reserva.

A asserção feita por Floch de que Tonelli Rondelli considera o *A. humerale* idêntico ao *A. dissimile* provém de confusão; o que diz essa autora é que Berlese identificou erradamente um *A. dissimile* pensando tratar-se de *A. humerale*.

Amblyomma humerale Koch, 1844 passa, portanto, a ter a seguinte sinonímia:

Amblyomma gypsatum Neumann, 1899
Amblyomma longirostrum Cooper et Robinson, 1908
Amblyomma brimonti Neumann, 1913

SUMMARY

a) The species *Amblyomma tapiri* Tonelli Rondelli, 1937 and *Amblyomma finitimum* Tonelli Rondelli, 1937 are synonymous with *Amblyomma cajennense* Fabricius, 1787. Both species are based in differences of size, colour, punctations and form of the dorsal shield, presence or absence of ventral plates, size, form and direction of the spine of coxa IV. Such differences prouved to be only variations frequently observed in large lots or in cultures of *Amblyomma cajennense*. The revalidation of Koch's species *Amblyomma tenellum* Koch, 1844 and *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 proposed by Tonelli Rondelli as also of *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 and *Amblyomma versicolor* Nuttal et Warburton, 1908 cannot be accepted by the same reasons.

b) *Amblyomma beccari* Tonelli Rondelli, 1939 and *Amblyomma latepunctatum* Tonelli Rondelli, 1939 are cospecific with *Amblyomma scalpturatum* Neumann, 1899 the same being true for *Amblyomma myrmecophagium* Schulze, 1935 and for *Amblyomma brasiliense* var. *guianense* Floch et Abonnenc, 1940, as previously stated.

c) *Amblyomma tasquei* Floch et Abonnenc, 1940 is a good species but synonym with *Amblyomma romitii* Tonelli Rondelli, 1939 which has priority.

d) *Amblyomma curruca* Schulze, 1936 is a synonym of *Amblyomma parvum* Aragão, 1908.

e) *Amblyomma deminutivum* Neumann, 1899 represents a variation of *Amblyomma dissimile* Koch, 1844, a species whose internal spine of coxa IV may be poorly developed or even absent.

f) *Amblyomma nigrum* Tonelli Rondelli, 1939 prouved to be synonym with *Amblyomma paccae* Aragão, 1911 the type representing a blackish specimen of the later species.

g) *Amblyomma brimonti* Neumann, 1913 is a synonym of *Amblyomma humerale* Koch, 1844.

BIBLIOGRAFIA

FONSECA FLAVIO e ARAGÃO HENRIQUE

1952. Notas de Ixodologia. IV — Considerações sôbre a nomenclatura de algumas espécies do gênero *Amblyomma* do Brasil e países limítrofes. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Tomo 50, pag. 727-731.

TONELLI RONDELLI, M.

1937. Ixodoidea. Parte I. *Amblyomma ovale* Koch, *Amblyomma cajennense* Fabricius e le specie a loro affini nuove o poco note. Rivista di Parasitologia I (4):273-300.

TONELLI RONDELLI, M.

1939. Ixodoidea. Parte II. Contributo alla conoscenza della fauna ixodologica sud-americana. Rivista di Parasitologia III (1): 39-55.

NEUMANN, G.

1899. Revision de la famille des Ixodidés. Memories de la Societé Zoologique de France. XII:221.

SCHULZE, P.

1936. Neue und wenig bekannte Amblyommen und Aponomma aus Africa, Südamerika, Indien, Borneo und Australien (*Ixodidae*). Zeitschrift für Parasitenkunde 8 (6): 619-637.

NEUMANN, L. G.

1913. Un nouveau sous-genre et deux nouvelles espèces d'Ixodidés. Bull. de la Soc. Zoologique de France XXXVIII:147-151.

FLOCH, H, et ABONNENC, E.

1940. Ixodidés de la Guyane Française, Institut Pasteur de la Guyane et du Territoire de l'Inini. Publication No. 3:34.

Notas de ixodologia

VI — Descrição da fêmea de **Amblyomma Multipunctum**, Neumann 1899 e redescrição do macho **(Acari: Ixodídae)**

por

Flavio da Fonseca e **Henrique B. Aragão**

(Com as estampas — Figs. 1 a 4)

Esta espécie foi estabelecida por L. G. Neumann baseando-se na descrição de 2 exemplares machos apanhados em *Tapirus* e *Dicranoceros furcatus* e, desde então, não foi mais vista até agora. Ultimamente encontramos 11 exemplares dessa espécie, constando de 4 machos e 7 fêmeas, em muito bom estado de conservação, em um tubo existente na Coleção do Instituto Oswaldo Cruz, sem indicação de proveniência, mas que tudo leva a crêr que seja do Brasil ou de outro país da América do Sul, porquanto pouco material para classificar temos recebido até agora da América Central e do Norte. Tendo recebido os tipos do *Amblyomma multipunctum* por gentileza do professor A. Brizard, da Escola de Veterinária de Toulouse, na França, ao qual aqui testemunhamos os mais sinceros agradecimentos, foi-nos possível obter absoluta certeza da identidade do nosso material com o original de Neumann.

Resolvemos por iso descrever a fêmea de *Amblyomma multipunctum*, até agora desconhecida e redescrever o macho, porquanto a descrição de Neumann é um tanto incompleta em certos pormenores especialmente devido à falta do hipostômio nos seus exemplares.

DESCRIÇÃO DA FÊMEA

Em exemplares, se não em jejum, pelo menos pràticamente sem alimentação, observa-se ser uma espécie de tamanho médio e conformação elíptica.

Gnatosoma de dimensão média, tendo o idiosoma colorido castanho escuro, mais claro ao nível do escudo dorsal, que é ornamentado, com patas pardo amareladas bem mais claras do que o corpo. Comprimento total, até a extremidade dos palpos indo de 5,17mm no exemplar menor a 5,73 no maior, cabendo ao idiosoma 4,05mm e 4,61mm, respectivamente, e variando nêles sua maior largura de 2,32mm a 3,75.

Idiosoma de conformação elíptica alongada no exemplar maior, sendo no outro em elípse alargada, correspondendo também, a êste último, um escudo mais largo.

Escudo dorsal subtriangular de coloração castanha clara na região central e escura nas margens, com ombros aparentes, escápsulas nítidas, apresentando uma pequena mancha nacarada, no ângulo posterior do escudo. Pontuações grandes e profundas, maiores do que as do macho, entremeadas de outras muito pequenas e superficiais, estas mais abundantes nos ângulos laterais. Fossetas cervicais largas e profundas, muito maiores que as do macho, interrompidas no bordo anterior e prolongadas em dois sulcos cervicais largos, profundos e ligeiramente divergentes que vão além do meio do escudo. Escápulas salientes, olhos abaulados, alongados, situados logo adiante dos ângulos laterais. A coloração do escudo é castanha amarelada, apresentando-se êle como que recoberto de uma camada vítrea nos exemplares conservados no álcool.

MEDIDAS PADRÃO DO ESCUDO DORSAL

PA	— 1.85mm	TS	— 1.07mm
PB	— 2.21 "	SS	— 0.85
PM	— 1.50 "	CC	— 1.07
PT	— 1.60 "	SC	— 0.42
TT	— 2.28 "	NPT	— 0.17
OO	— 2.33 "	NST	— 0.21
TO	— 0.14 "		

O restante da face dorsal tem uma coloração mais escura com sulco marginal completo e pontuações profundas, não se vendo pelos senão no bordo posterior dos festões, onde existem alguns pelos muito curtos, amarelados, implantados em depressões do tegumento. Sulco marginal nítido limitando festões retangulares. Face ventral castanha com pontuações menores que as da face dorsal, mais abundantes na zona situada entre os sulcos genitais e o bordo posterior, sendo maiores, mais numerosas e esparsas do que no macho. Ânus situado na altura dos peritremas, sendo saliente e circundado por um debrum liso que fica em plano inferior a êle. Intervalo entre o ânus e o orifício genital de 1,14mm no exemplar menor e 1,22mm no maior, sendo a distância do ânus à margem do corpo nesses exemplares de 1,07 e 1,28, respectivamente. Sulco anal muito nítido, semicircular e sulco anomarginal menos nítido, terminando no festão mediano.

Peritremas mais ou menos tão longos quanto largos com a forma de um triângulo muito regular com ângulo póstero agudo e os demais arredondados devido a falta de depressão do bordo ântero dorsal, do que resulta também um colo muito pouco pronunciado e situado mais ou menos no meio do corpo do peritrema. Os peritremas são cercados por um debrum escuro de largura uniforme e apresentam colorido

amarelado, com mácula alongada equidistante dos ângulos anterior e posterior, sendo seu polo anterior mais dilatado e cercado por um halo escuro. O comprimento dos peritremas é de 0,61mm no exemplar menor e de 0,70mm no exemplar maior, sendo sua largura de 0,60 em ambos os exemplares.

Gnatosoma um pouco mais alongado do que o do macho, apresentando as mesmas caracteristicas dêste. Base do capítulo bem mais larga do que a do macho e muito mais larga do que longa, quadrangular, de bordos laterais fortemente convexos ao contrário dos do macho, onde são pràticamente retos. Comprimento 0,35mm no menor exemplar e 0,50mm no maior, sendo sua largura 0,95mm e 1,07mm, respectivamente. Córnos bem desenvolvidos, porém menores do que no macho, medindo em ambos os exemplares 0,57mm. Áreas porosas muito grandes, profundas, alongadas, quase paralelas, ocupando a maior parte da superfície dorsal da base; algumas pontuações esparsas são vistas na superfície restante. Face ventral da base mais larga do que longa com bordo posterior arredondado e superfície lisa, brilhante e levemente abaulada no sentido ântero posterior; mede 0,42 de comprimento no menor exemplar, 0,57 no maior e de largura 0,85 e 0,92, respectivamente.

Palpos de comprimento médio com 0,85mm no exemplar menor e 0,92 no maior, de aspéto rugoso com 1.º artículo invisível pela face dorsal e apresentando pela face ventral um espinho retrógrado um tanto espêsso e pouco longo de posição oblíqua, mais agudo e mais longo do que o do macho. O 3.º artículo dos palpos mede na face dorsal em ambos os exemplares 0,28mm de comprimento. O 2.º e 3.º artículos são escavados na face interna, com a face dorsal externa bombeada e a face ventral quase plana. Ambos êsses artículos com pilosidade na face dorsal; o 2.º artículo, que mede de comprimento 0,5mm em ambos os exemplares, apresenta uma ligeira saliência no ponto de encontro do bordo interno com o 3.º artículo, mostrando ainda forte contrição basal que determina o aparecimento de uma pequena projeção na superfície dorsal, ocupando tôda a largura desta, oblìquamente dirigida de fora para dentro e de diante para trás, projeção esta menos pronunciada do que a homóloga do macho, cujo 2.º artículo é menor do que o da fêmea. Hipostômio espatulado, largo já próximo ao ápice e apresentando 5 nítidas fileiras com mais ou menos 8 a 9 dentes pouco desenvolvidos, agudos e retrógrados, de cada lado, fileiras estas cujos dentes são menores nas de dentro do que nas de fora. Os dentes de cada fileira são pequenos na parte anterior do hipostômio, tornam-se maiores na parte mais larga dêle e depois diminuem de tamanho, conferindo, a uma certa porção da parte posterior do hipostômio, um aspeto escamoso. A fórmula dentária de 5 fileiras de dentes de cada lado do hipostômio, nesta espécie constitui um ótimo caráter que a diferencia de todos os restantes *Amblyomma*. Comprimento do hipostômio 0,90 no menor exemplar e 0,75 no maior apresentando êle, na corônula, um forte entalhe.

Patas de colorido bem mais claro do que o restante tegumento, apresentando mais escurecidas suas articulações do que no macho. Coxa I com dois espinhos, dos quais o interno bem mais largo, de bordo externo reto e de bordo interno formado em parte pelo bordo interno da coxa, vendo-se sôbre êle algumas cerdas. Espinho externo mais estreito, com o bordo interno reto e bordo externo levemente convexo parecendo pouco mais curto que o do espinho interno. Coxas dos segundo e terceiro pares apenas apresentando uma pequena saliência externa do bordo indicando tratar-se de um espinho, saliência esta que é mais pronunciada na coxa IV. Os demais artículos das patas apresentam cerdas esparsas mais longas no bordo ventral, havendo 3 espinhos consecutivos no bordo ventral dos tarsos I a IV que são bruscamente atenuados. Unhas longas encurvadas nas extremidades com carúnculas pequenas que mal atingem metade da sua concavidade. Comprimento do pré-tarso do 1.º par nos dois exemplares 0,71mm e tarso 0,28mm, sendo no IV par essas medidas de 0,40mm e 0,28mm respectivamente.

REDESCRIÇÃO DO MACHO

Ixodídeo de dimensões médias, de conformação oval bastante estreitada na porção anterior, com escápulas salientes, ombros acentuados e gnatosoma curto. Comprimento total do exemplar maior até a extremidade dos palpos 5,87 e do menor 4,50mm, sendo a largura ao nível dos olhos 2,20mm e 1,98mm e na parte mais larga do corpo 3,46 e 2,92mm, respectivamente nos exemplares maior e menor acima referidos.

Face dorsal — Escudo dorsal castanho, um pouco mais claro na zona média e anterior, medindo de comprimento 4,95mm e 3,72mm, respectivamente no exemplar maior e no menor. Fossetas cervicais profundas e curtas no exemplar menor, alongada no maior e convergentes na extremidade posterior. Sulcos cervicais ausentes assim como o sulco marginal.

Manchas do escudo — O escudo apresenta lateralmente em um dos exemplares manchas alongadas, de contôrno irregular, interrompidas, pouco aparentes, de colorido castanho amarelado que começam atrás dos olhos e se estendem até sôbre os festões externos.

Olhos pequenos, ligeiramente salientes, situados pouco atrás dos ombros, na altura do 2.º par de patas. Festões nìtidamente separados por sulcos profundos com ligeiro prolongamento quitinoso no exemplar mais forte. Pontilhado fino, denso e pouco coalescente no exemplar menor que apresenta pontuações profundas entremeadas por outras minúsculas sôbre os festões. Essas pontuações são rasas e coalescentes no exemplar maior, em cuja metade anterior do escudo elas são raras. Pontuações raras ou ausentes nas saliências quitinosas existentes nas porções mediana, posterior e nas laterais do escudo.

Face ventral de coloração um pouco mais clara, com pelos curtos amarelados. Orifício genital ao nível do 2.º par de coxas. Sulcos genitais nítidos terminando no intervalo entre os 2.º e 3.º festões. Sulco anal nítido, em arco de círculo, no exemplar maior e em arco de lira no exemplar menor. Sulco ano-marginal incompleto. Festões nítidamente visíveis e bem separados. O intervalo entre o póro genital e o ânus mede 1,35mm no exemplar menor e 1,78mm no maior, sendo a distância do ânus à margem do corpo respectivamente 1,00mm nesses exemplares.

Peritremas relativamente curtos, de ângulos postero interno reto; colo pouco pronunciado muito largo, superfície amarela circundada por debrum quitinoso, mais escuro, muito pouco alargado no bordo externo. Ao contrário do peritrema da fêmea, o colo é posterior; o peritrema mede de comprimento 0,5mm no exemplar menor e 0,70mm no maior, sendo suas larguras 0,42mm e 0,57mm. Ânus saliente, cercado por um debrum quitinoso um tanto elevado.

Gnatosoma mais curto do que o da fêmea; base do capitulo ligeiramente deprimida no centro com cornos bem constituídos e superfície pontilhada; bordos laterais retos e posterior côncavo. A base mede de comprimento, na linha média, 0,34 no exemplar menor e 0,45mm no maior, sendo sua maior largura respectivamente, 0,67mm e 0,78mm nesses exemplares.

Face ventral da base brilhante com os bordos arredondados. Palpos curtos com o 2.º artículo pouco maior que o 3.º e apresentando forte saliência dorsal posterior. Na face ventral, acima da pequena saliência interna, na sua extremidade distal, o 2.º artículo dos palpos mede de comprimento 0,35mm no exemplar menor e 0,42, no maior. Na face ventral há cinco pequenas saliências internas na sua extremidade distal. O primeiro artículo dos palpos apresenta um dente retrógrado largo.

Hipostômio espatulado com 4 fileiras de 8 a 9 dentes que se tornam progressivamente menores de fora para dentro diminuindo também os dentes de diante para trás. Corônula com um profundo entalhe mediano.

Patas. Coxa I com dois espinhos fortes dos quais o interno mais longo e largo e pouco mais longo que o espinho externo; ambos de conformação semelhante aos da fêmea. Coxas II e III com 2 espinhos curtos dos quais o externo é o maior. Coxa IV com um espinho longo e fino, o qual no exemplar mais robusto tem cêrca do dôbro do comprimento do que existe no exemplar menor, sendo suas medidas 0,5mm e 0,21mm respectivamente. A robustez das patas difere muito nos dois exemplares sendo as II e IV muito robustas no exemplar maior e de largura mais ou menos igual ao das fêmeas, no exemplar menor. Tarsos bruscamente atenuados nos pares II a IV com 3 espinhos ventrais consecutivos. Tarso do 1.º par mede 0,93mm no exemplar maior e 0,64mm no menor; os pretarsos nesses exemplares medem respectivamente 0,64mm e 0,51mm. Tarso do 4.º par mede 0,67mm no exemplar

maior e 0,56mm no menor e o pretarso 0,25mm em ambos os exemplares. Unhas longas encurvadas na extremidade e carúncula pequena ocupando menos de metade da concavidade da unha.

Descrição baseada no lote N.º 924 da Coleção de Ixodídeos do Instituto Oswaldo Cruz, de proveniência e hospedeiros desconhecidos, sendo provável tratar-se de material de território brasileiro e da região amazônica. Para alotipo foi escolhida uma fêmea menor que tomou o N.º 925.

SUMMARY

The female of *Amblyomma multipunctum* Neumann, 1899 is described for the first time, the species being easily recognized by the unusual formula 5/5 in the female's hypostoma, the formula of the male's being 4/4. A redescription of the male is presented.

BIBLIOGRAFIA

NEUMANN, L. G.
1899. Revision de la Famille des Ixodidés. Mémories de la Société Zoologique de France. XII:226-227.

NEUMANN, L. G.
1911. Das Tierreich Ixodidie 26. Lieferung. Bd. 12;226-227. Tomo 12, pgs. 226-227.

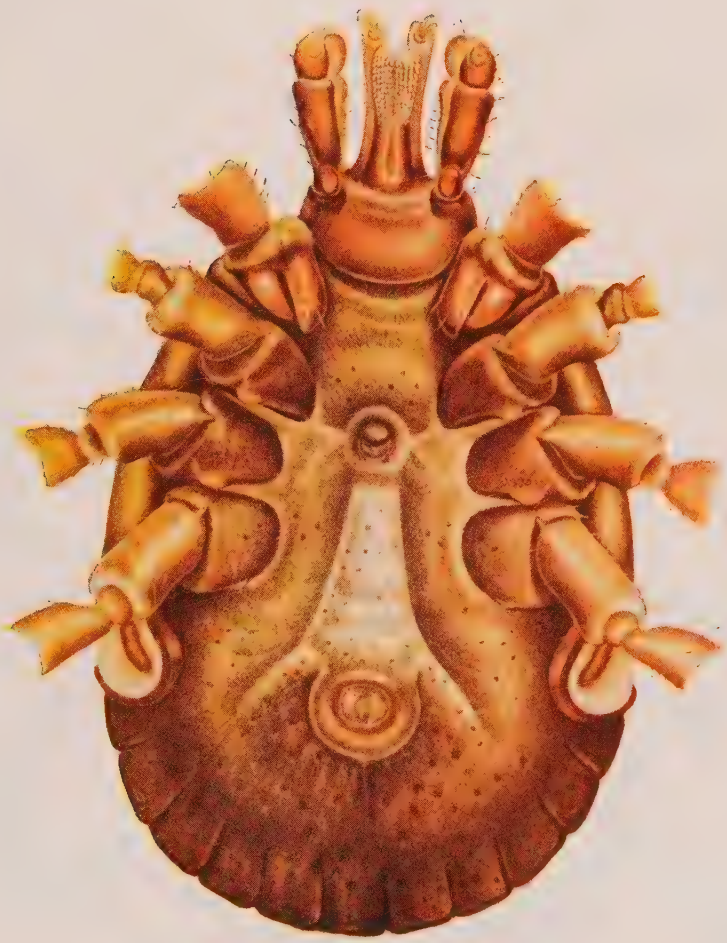
ROBINSON, L. E.
1926. The genus Amblyomma. A Monograph of Ixodoidea. Part IV. Cambridge University Press.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

ESTAMPA 1

Amblyomma multipunctum — Neumann 1899 — femea

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



Amblyomma multipunctum — Neumann 1899 — femea

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

Amblyomma multipunctum — Neumann 1899 — macho

ESTAMPA 4

Amblyomma multipunctum — Neumann 1899 — macho

Em 1948 o autor junior recebeu do Dr. Cchulze, etnólogo do Museu Paulista, um lote do mesmo carrapato do Estado de Goiás, tendo a esse proposito feito comunicação á Sociedade Brasileira de Entomologia na secção de 31. 3. 48.

Em 1950 Souza Lopes e Macedo assinalaram a especie no vale do Rio S. Francisco, na Bahia e novamente no Pará, na Ilha de Marajó.

Em 1952 recebeu o Instituto Oswaldo Cruz material colhido sobre burro, de S. Juan de los Morros, Venezuela, remetido pelo Dr. J. F. Torrealba e em 1948 de Paracatú, Estado de Minas Gerais, Brasil, remetido pelo Dr. Emanuel Dias.

Recentemente foi doado no Instituto Butantan material colhido sobre *Panthera onca* em Paulicéa, Barra do Rio Paraná, Estado de Mato Grosso, remetido pelo Dr. Tuffy Haron a 15.X.52. Esta ultima remessa demonstra a capacidade de adaptação da especie a um novo hospede zoologicamente muito distanciado do hospedeiro normal, o cavalo. Outros animais parasitados mais raramente são o cão, o asno, a besta, o boi e cabra. Este ultimo hospedeiro sugere a possibilidade de vir a adaptar-se a especie aos cervideos silvestres.

Na revisão dos Ixodideos neotrópicos na qual colaboram os autores, fez-se necessario comparar a especie de Neumann com o *Anocentor columbianus* Schulze, 1937, descrito de alguns exemplares da Colômbia, de onde nessa época não fôra ainda assinalado o *Otocentor nitens*.

Desse estudo resultou a verificação do ser a especie de Schulze identica á de Neumann, caindo, portanto, *Anocentor columbianus* Schulze, 1937 na sinonímia de *Otocentor nitens* (Neumann, 1897).

Outra consequência da comparação feita é a da identidade generica. Tanto *Otocentor* Cooley, 1938 quanto *Anocentor* Schulze, 1937 são monotipicos e têm como genotipo a mesma especie *nitens*, caindo, portanto, o mais recente em sinonímia, prevalecendo *Anocentor* Schulze, 1937, que tem prioridade.

Otocentor nitens (Neumann, 1897) passa portanto a sinônimo de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897).

SUMARY

Anocentor columbianus Schulze, 1937 is a synonym of *Otocentor nitens* (Neumann, 1897).

Otocentor Cooley, 1938 becomes a synonym of *Anocentor* Schulze 1937. The correct name of the species is now *Anocentor nitens* (Neumann, 1897).

In Brazil this species was first recorderd by Aragão (*in* Floch and Abonnenc, 1945) in Belém do Pará and by Fonseca (1948) in Goyaz. New records from Minas Gerais and Matto Grosso are presented and a new host, the jaguar, *Panthera onca,* is added.

BIBLIOGRAFIA

FLOCH, H. e ABONNENC, E.

1945. Ixodidae de la Guadeloupe. Presence de *Dermacentor nitens* Neumann, 1897. Institut Pasteur de la Guyane et du Territoire de l'Inini. Publication No. 118:1-5.

FONSECA, F. DA

Sobre a ocorrência de um genero de acariano centro e norte americano no Brasil. Comunicação á sessão da Sociedade Brasileira de Entomologia a 31.3.48.

LOPES, H. DE SOUZA e MACEDO, J. N.

1950. Sobre a presença de *Otocentor nitens* (Neumann, 1897) no vale do Rio S. Francisco, Brasil (*Acarina, Ixodidae*). Revista Brasileira de Biologia 10(1):59-64.

SCHULZE, P.

1937. *Anocentor columbianus* n.g. n.sp. (Ixod.). Zoologischer Anzeiger 120 (1-2): 24-27.

COOLEY, R. A.

1938. The genera *Dermacentor* and *Otocentor* (*Ixodidae*) in the United States, with studies on variation. National Inst. of Health Publ. No. 171:65-68.

Levantamento biogeográfico da Baía de Guanabara

II — Crescimento do manguezal na Ilha do Pinheiro

por

Lejeune de Oliveira
encarregado da Estação de Hidrobiologia

e

Luíza Krau
assistente da Estação de Hidrobiologia

Na I parte publicada em 1950, expusemos o levantamento biogeográfico do fundo da Baía de Guanabara entre os minutos 48 e 52 do paralelo de 22º.

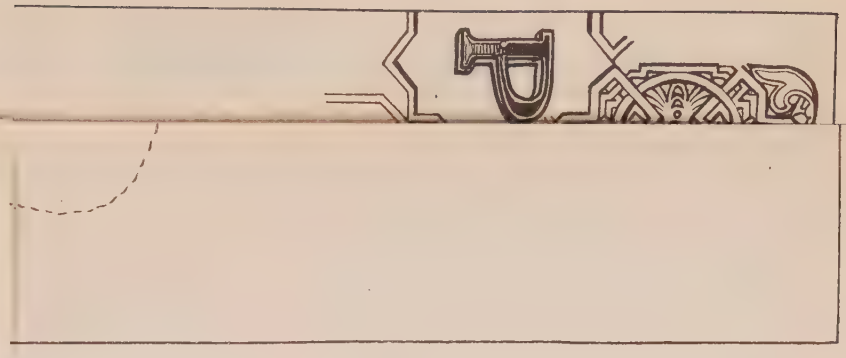
Na parte hoje apresentada cuidaremos do crescimento do manguesal, no período de 1914 a 1953, na Ilha do Pinheiro, e dos levantamentos de suas praias. Por isto o nosso assunto principal gravita à roda dos vários mapas das praias, em escalas de 1/50, 1/100, 1/200 e em tôrno do Mapa da Ilha do Pinheiro em escala de um por mil, cuja redução apresentamos na figura 1. As reduções dos outros mapas e perfís são apresentados nas figuras 2 a 9.

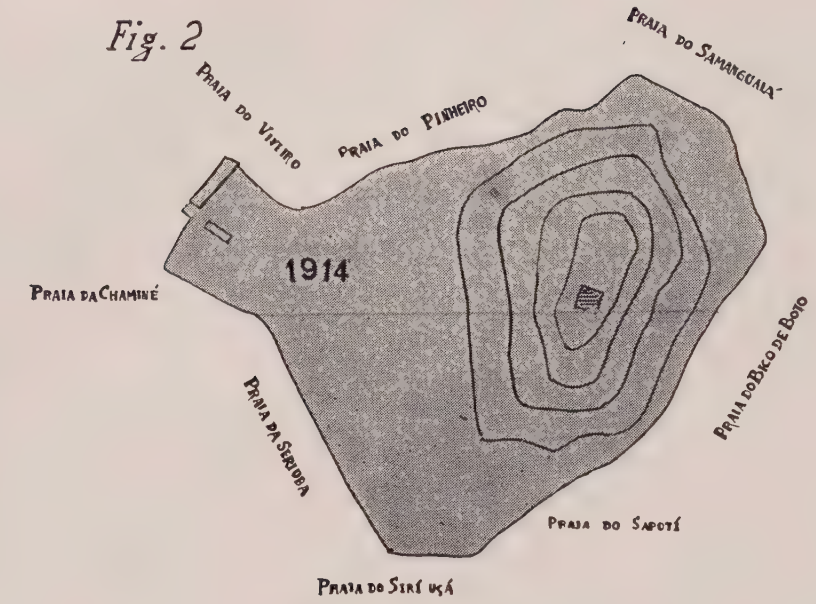
Pelo mapa de João Radamake, datado de 1914, é que computamos o crescimento da Ilha do Pinheiro. Reconhece-se fácil e imediatamente o caminhamento feito por Radamake em 1914. O seu zero começou na parte sul do antigo estaleiro no Sapoti e depois seguindo para o norte marcou os pontos de triangulação de 1 até 6 e indo para o sul marcou-os de A até H. Houve neste caminhamento medida de 15 distâncias e de 15 ângulos, que fizeram um polígono de 77.500 m²: a área da ilha em 1914.

As figuras 2 e 3 mostram a superfície da ilha em 1914 e em 1952. Quando a ilha passou a pertencer ao Instituto Osvaldo Cruz, em 1935, o manguezal era permanentemente devastado pelos pescadores que tiravam a *Rhizophora mangle,* isto é, o "mangue verdadeiro", para fazer infuso para banho de redes de pesca, o mesmo acontecendo com as aroeiras; outras árvores de mangue — a seriuba, o mangue amarelo — eram derribadas, e depois de secas elas serviam de lenha. Em 1936 o vigia que veio morar na ilha: o Sr. Valdemar de Melo — mostrou-nos como estava a ilha, e pudemos perceber como cresceram as árvores de mangue de 1914 a 1936: em 22 anos. O crescimento anterior a 1936 era pràticamente nulo, igual a de todos os monguezais devastados das ilhas

* Entregue para publicação em 1953.

Fig. 1 — Planta da Ilha do Pinheiro na escala de 1/2000 reduzida do original em escala de 1/1000; levantamento topografico e ecológico. 1 — na Praia do Samanguaiá, ao norte da ilha a zonação de *Rhizophora mangle* o mangue verdadeiro. Estas são as árvores representadas, as da fig. 23, 24, 25. 2 — mais para dentro a zona com a árvore de mangue: *Laguncularia racemosa* (o aspecto real é o da fotografia n.º Fig. 19. 3 — zona de areia dentro do manguesal, corresponde à fotografia 20,é local das *Uca leptodactyla, Ucidae cordatus,* os crustáceos dominantes nesta faixa. 4 — há uma entrada em 34-FE, que era a entrada do "viveiro do Ferro Velho", onde hoje penetra a água do mar, e banha todo o *Avicennietum*. Esta entrada com as duas antigas pilastras da "Comporta do Ferro Velho" nos mostra a fotografia da fig. 26. 5 — zona mais interior de pneumatóforos, êstes já estão na altitude de 0,40 m; êles estão em uma areia mais dura, (fotografia — fig. 22). Os carangueijos uçás habitam esta região. 6 — o *Lagunculariетum* que fica mais interior, sua margem interna é a fotografia da fig. 11. 7 — a zona de altitude maior, sempre a sêco, nunca molhada por águas das marés, onde cresce a aroeira de cheiro *Schinus terebentifolius,* que foram fotografadas; fig. 27. 8A — zona que está atrás da cêrca da fig. 12, local onde há um *Paspalietum,* isto é, um gramado da "grama picante de restinga" que só cresce acima do nível 0,6 m de altitude, e pode ser molhada várias vêzes pelas águas das marés. 8B — zona onde há predominância do "capim moita" (M. fig. 15), sua altitude é 1,00 m. 8C — mais para dentro está a zona onde há predominância de guaiamus *Cardisoma guanhumi* a 1,20 m de altitude; esta zona se limita com o local em que foi outrora a Praia do Pinheiro, em 1914. Nesta região o manguesal cresceu 2,38 m por ano (cêrca de 100 metros dêste local é que hoje se acha a Praia do Pinheiro). Na fotografia da figura 17 estão os buracos de guaiamus entre os capim-moita. 8D — no mapa é uma lista preta, que representa uma vala de água do mar, na altitude de 0,5 m local das *Uca pugnax brasiliensis,* pequenos carangueijinhos "chama-maré". 9 — "esporão" formado por uma árvore de "mangue verdadeiro" *Rhizophora,* ponto avançado no aterrar da Praia do Pinheiro. 10 — trecho de praia com algumas *Avicennia* e muitas pedras onde se escondem os guaiás *Panopeus herbsti,* carangueijo prêto. 11 — plantação de pitas. 12 — terreno plano, duro, sem nenhuma vegetação, é de consistência meio saibrosa, e local muito abundante em carangueiros *Ucides;* fotografia: U, fig. 12. 13 — garage das lanchas "Henrique de Aragão" para navegar na Baía de Guanabara, e a lancha "Marques da Cunha" para navegar em alto mar, nas paredes de pedras, entre as fendas há numerosos aratus até ao local sudoeste "ponta do Aratu" onde predominam *Goniopsis cruentata* belos carangueijos — aratu, coloridos de vermelho-prêto e branco. 14 — viveiro do Pinheiro, é o da fotografia da figura 14; entre as suas pedras crescem muito bem os *Goniopsis cruentata,* nas superfícies de suas águas flutuava a alface do mar *Ulva lactuca* (U, fig. 14). 15 — balisa branca indicadora de cabo elétrico submarino de 6.000 volts. 16 — casa do Vigia da Ilha. 17 — antiga chaminé de antiga fábrica de sabão que nunca chegou a funcionar. 18 — Gaiolas para os *Macacus rhesus* criados nesta ilha. 19 — 10 tanques de água do mar, para estudo de biologia marinha. 20 — caminho para charrete, para levar material para o laboratório. 21 — encanamento de água do mar para os aquários da Estação de Hidrobiologia. 22 — casas das bombas de água do mar. 23 — Usina geradora de eletricidade de 220 volts, e casa de transformadores de 6.000 para 110 volts. 24 — Cisterna do Pinheiro, cujo estudo "Observações hidrobiológicas" foi publicado nesta memória. 25 — casa do Sr. Mecânico e Motorista das lanchas. 26 — poço junto ao mar, foco de *Anopheles tarsimaculatus* que foi aberto para manter a água muito salgada e assim evitar êstes mosquitos. 27 — Vala dos Porcos, de água oligohalina, quase doce, na altitude de 1,40-1,48 m. 28 — Praia do Bico de Boto, assim chamada antigamente, e até há bem pouco tempo, por apresentar vários esqueletos de boto, o mamífero que nada na Baía de Guanabara. O seu manguesal tem árvores de *Laguncularia* e *Avicennia*. 29 — árvores de *Avicennia* cujas raízes se espalharam enormemente. 30 — uma zona de pedras, na praia, onde pouco mais para dentro estão as árvores *Laguncularia racemosa* e *Avicennia tomentosa* e na parte inferior de seu caule se acham as caracas *Chthamalus rhizophorae* espécie descrita originalmente neste local. 28, 29 e 30 — mantêm a mesma superfície que em 1914. 31 — arbustos de *Hibiscus*. 32 — *Avicennietum,* manguesal de "mangue seriuba". 33 — pequenas zonas de guaiamus. 34 — FE — pilastras do "viveiro Ferro Velho".





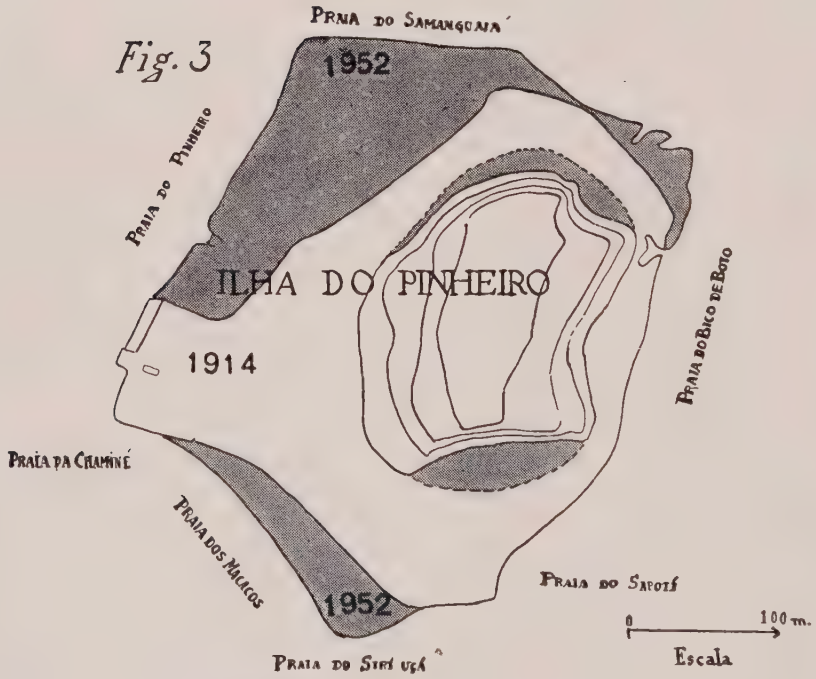


Figura 2 — a Ilha do Pinheiro em 1914.

Figura 3 — Ilha do Pinheiro em 1952, vê-se em cinza a área acrescentada de 1914 até 1952: houve grande acréscimo nas praias do Pinheiro e Samanguaiá. APraia da Seriuba, chamada hoje pelos pescadores de "Praia dos Macacos" aumentou muito menos que a Praia do Pinheiro. Não houve aumento de área nas praias do Sapoti e do Bico de Boto.

A ILHA DO PINHEIRO EM 1914 E EM 1952

(figuras 2 e 3)

Observando os mapas de 1914 e 1952 vemos que o Morro do Pinheiro perdeu uma área de cêrca de 4.100 m² e sendo que na sua parte norte perdeu 3.000 m². O volume do morro que deveria ser de 360.000 m³, tinha em 1914 uma superfície de 27.140 m² e a ilha do Pinheiro tinha uma área total de 77.500 m². De 1914 até 1952 a parte norte da ilha aumentou de muito, havia conforme o mapa de 1914: a Praia do Viveiro que seguia para a Praia do Pinheiro; aquela era uma praia côncava, hoje desaparecida, e em seu lugar está um acréscimo de terreno de 11.000 m² coberto pelo manguesal e limitado pela atual Praia do Pinheiro (que segue em linha reta hoje com o "Cais Henrique de Aragão" ou seja a parede do antigo "Viveiro") (fig. 1, n.º 14). O volume de terra, em metros cúbicos, necessário para êste aterro de 11.000 metros quadrados, não foi retirado sòmente do desmonte natural dos 3.000 m² do morro da ilha, êste não daria para aterrar esta superfície. Houve uma ação muito acentuada por parte do próprio manguesal. Uma prova muito fácil de ser verificada a qualquer momento é a seguinte: a qualidade do terreno — o terreno que é acrescentado pelo manguesal tem sempre a sua estrutura característica, suas conchas de samanguaiás, seus restos de caracas, de crustáceos, e mais uma série de coisas do mar além de areia e de um lôdo de côr preta que fica na parte mais profunda. O terreno que vem do morro, trazido pela chuva é de aspecto e textura diferente, reconhece-se imediatamente à primeira vista. Na parte sul o desbarrancado foi uma área de cêrca de 4.000 m² que perdeu o Morro do Pinheiro, e a zona aterrada: a Praia do Siri-Uçá e a Praia dos Macacos tiveram um acréscimo de 5.400 m², também não sendo exclusivamente feito à custa da terra do morro. Nas praias do Sapoti e na do Bico de Boto não houve nenhum acréscimo. Vendo o mapa de 1914 e o de 1952 podemos apreciar êstes fatos. Hoje o que evita maior desabamento do lado do norte é uma ruína de um paredão junto ao terraço da ilha (fig. 1 — 23 XX) além de uma ruína de um antigo nicho junto à Cisterna e algumas árvores mandadas plantar nas rampas pelo Prof. Dr. Henrique de Aragão, de 1936 a 1950.

LISTA DA FLORA E FAUNA

Apresentamos a lista dos vegetais e animais referidos neste trabalho, alguns dos vegetais foram determinados pela Senhorita Ida de Vattimo, naturalista do Museu Nacional do Rio de Janeiro, a quem agradecemos.

FLORA

EMBRIOPHYTA ASIPHONOGAMA

Pteridophyta

Família Polypodiaceae

Acrosthicum sp. Uma das samambaias da restinga.

EMBRIOPHYTA SIPHONOGAMA

Monocotyledonae

Ordem CYPERALES
Família Cyperaceae
Cyperus sp.

Ordem IRIDALES
Família Amaryllidaceae
Fourcroia gigantea Vent. Piteira, plantada pelo Prof. Henrique de Aragão.

Ordem GRAMINALES
Família Graminaceae
Paspalum vaginatum. Uma das "gramas espetadoras" da restinga. "Grama picante do mangue".

Dicotyledonae

Ordem AVICENNIALES
Família Avicenniaceae
Avicennia tomentosa Jacq. Uma árvore de mangue, "seriúba".

Ordem CHENOPODIALES
Família Chenopodiaceae
Chenopodium ambrosioides L. A herva de Santa Maria; existe na parte da ilha do Pinheiro não influenciada pelo mar, onde nos mapas está marcado: "terreno de vegetação artificial".

Família AMARANTHACEAE
Iresine portucaloides Mog.
Iresine vermicularis Mog. Duas espécies de iresines que existem misturadas com o *Paspalum* na "zona de Iresine". Mapa da figura 9, n.º 15.

Família URTICACEAE
Urera sp. Urtiga branca, existe na zona de "vegetação artificial".

Oordem MALVALES
Hibiscus tiliaceus L. Embira do mangue. Alguns arbustos.
Guaxuma cordifolia L. "Vassoura de guaxima", cresce no terreno não molhado pela água do mar.
Sida acuta Burm. "Vassourinha" do "terreno de vegetação artificial".

Família EUPHORBIACEAE
Phyllantus lathyroides A. Ang. Herva pombinha, não existe na zona banhada pelo mar.
Ricinus communis L. Cresce no Morro do Pinheiro.

Ordem CUCURBITALES

Família CUCURBITACEAE

Momordica charantia L. Melão de São Caetano; na vizinhança do mar existe um pouco acima da Praia do Bico do Boto, indo para a ponta do Samanguaiá; cresce em vários locais do Morro do Pinheiro.

Ordem GERANIALES

Família ANACARDIACEAE

Anacardium occidentala L. O cajueiro, plantado no Morro do
Schinus terebenthifolium Rad. Uma das aroeiras, a aroeira de cheiro. É natural, cresce no local com mais de 1,5 m de altitude.

Família PORTULACACEAE

Portulaca sp. *Portulaca elatior?* Às vêzes entre *Iresine.*
Salicornia sp. Uma salicornia que é nativa no local 8 A da Restinga do Pinheiro, Mapa da Fig. 1.

Família LEGUMINOSACEAE

Mimosa sepiaria Bent. Maricá. Cresce na Praia do Pico do Boto, em nível acima da influência da água do mar.
Vigna luteola Benth. Feijão da praia.

Ordem MYRTALES

Família MYRTACEAE

Eugenia michelii L. Pitangueira. É nativa, mas só aparece em altitudes maiores de 2 m.
Psidium guayava Roddi. Goiabeira. Mandada plantar no Morro do Pinheiro e nas baixadas da ilha.
Psidium araca R. Araçá. Mandada plantar no Morro do Pinheiro.

Ordem SAXIFRAGALES

Família COMBRETACEAE

Laguncularia racemosa Gaerdt. Mangue branco, mangue manso. Ficam a beira mar, nas zonas marcadas nos vários mapas das praias.

Ordem OLEALES

Família JASMINACEAE

Jasminum sp. Jasmim da Praia. Cresce na zona de arbustos, a 1,3 m de altitude na eRstinga Nogueira Penido, fig. 9, n.º 13.

Ordem SCROFULARIALES

Família ACANTHACEAE

Thumbergia alata Boj. Amarelinha. Cresce perto da Cisterna do Pinheiro, a cêrca de 2 m de altitude.

Família LABIATAE

Leonurus sibyrica L. "Cordão", cresce naturalmente na ilha,, mas não nas zonas que sofrem influência das águas do mar.

Ordem ERICALES
Família SAPOTACEAE
Brumelia obtusifolia "Abio da praia".
Achras sapati L. "Sapoti", foram mandados plantar; suas árvores deram o atual nome à "Praia do Sapoti".

Ordem RUBIALES
Família COMPOSITAE
Taraxacum officinale L. É nativa, nasce no Morro do Pinheiro, não foi observada na zona influenciada pelo mar.
Ageratum conyzoides L. Erva de S. João. Esta erva, e o seguinte picão não crescem em zona influenciada pelo mar.
Bidens bipinnatus L. "Picão".

Ordem RHIZOPHORALES
Família RHIZOPHORACEAE

Rhizophora mangle L. Mangue bravo, mangue sapateiro, mangue verdadeiro, crescem na zona da Praia do Samanguaiá, marcadas com o n.º 1 na figura 1.

Reino *ANIMALIA* Linnaeus, 1758
Os animais referidos no presente trabalho são os seguintes:

Phylum CNIDARIA Leuckart, 1848
Classe ANTHOZOA Ehrenberg, 1834
Ordem ACTINARIA Murrich, 1829
Actinia sp. (Da Praia do Bico de Boto). Algumas das "flores do mar", de côr avermelhada, que ficam nos blocos de granito.
Bunodactis sp. Uma actinia verde.

Phylum CTENOPHORAE Erschscholtz, 1829
Beroe sp. "Balõezinhos do mar". São atirados na beira da praia no lado leste das praias da ilha do Pinheiro.
Cidipoda sp. "Balãozinho do mar".

Phylum BRYOZOA Ehrenberg, 1831

Bugulla neritina L. Aparece como cabeleira meio violácea, recobrindo quase todos os suportes vivos ou minerais nas Praias doSapoti, Bico de Boto, mais intensamente que no Canal de Inhauma. Aparecem sòmente em certas épocas.
Bugulla flabellata, outra espécie.

Phylum ECHINODERMATA Leske, 1778
Classe ASTEROIDEA Burmeister, 1837
Enoplopatiria marginata (Hupé) Verril. Uma das estrêlas do mar, e do lodo, de águas mesohalinas; muito resistente ao calor e às mudanças de salinidade. Aparece às vêzes acima das linhas de baixamares de sizigia, ficando muito tempo a sêco.

Phylum ANNELIDA Lamarck, 1809

Classe POLYCHETA Grube, 1850

Nereis sp. Uma das minhocas da praia.

Terebellides sp. Uma das minhocas do lodo. Além destas, existem numerosas poliquetas, principalmente das tubicolas, as de tubos pequenos e calcáreos, em aglomerados, e as de tubos membranosos, ainda não determinadas.

Phylum ARTHROPODA Siebold & Stannius, 1845

Classe CRUSTACEA Pennant, 1777

Sub-classe CIRRIPEDIA Burmeister, 1834

Ordem THORACICA Darwin, 1854

Sub-ordem BALANOMORPHA Darwin, 1854

Balanus tintinabulum, Darwin

Caraca comum, cresce em qualquer suporte, mas principalmente nas pedras das praias do Sapoti e do Bico de Boto que tem as águas pouco mais salgadas que as do Canal de Inhauma.

Balanus amphitrite niveus Darwin, 1854. Uma das caracas brancas que crescem em águas mesohalinas da Baía de Guanabara.

Chthamalus rhizophorae Oliveira, 1739. Uma caraca grande e chata que cresce na árvore do mangue, do lado virado para a terra (nas árvores *Rhizophora mangle, Avicennia tomentosa*).

Sub-classe MALACOSTRACA Latreille, 1802

Ordem ISOPODA Latreille, 1817

Lygia exotica (Roux). Uma das baratas de praia, muito abundantes debaixo dos detritos úmidos nas linhas do deixa, nas Praias do Bico de Boto, Sapoti e Macacos. Menos freqüentes na parte oeste da ilha, onde as águas estão sujeitas a mudanças maiores.

Ordem AMPHIPODA Latreille, 1802

Orchestia platensis Kroyer. Uma das pulgas da praia, muito comum em certos locais, "zonas de anfípodas"; acham-se marcadas nos mapas das praias.

Melita mangrovi Oliveira, 1953. Uma pulga da praia descrita por Lejeune de Oliveira, o exemplar tipo foi colhido nas águas do Canal de Inhauma.

Ordem DECAPODA Latreille, 1802

Sub-ordem REPTANTIA Boas, 1879

Família GRAPSIDAE

Goniopsis cruentata (Latreille). Um dos "aratus", carangueijo de carapaça mais ou menos quadrada, de côres muito vivas, vermelho, branco e prêto.

Chasmagnathus granulatus Dana. Um dos carangueijos "catanhan" do manguesal.

Família Gecarcinidae

Cardisoma guanhumi Latreille: o guaiamu.

Ucides cordatus L. Caranguejo uçá, ou "carangueijo verdadeiro", como é chamado popularmente.

Família Ocypidae

Uca maracoani (Latreille). Carangueijo "tesoura"; na ilha do Pinheiro êles vivem bem na terra lamacenta, mais freqüentes no "Viveiro", fig. 1, n.º 14, e na Restinga do Pinheiro.

Uca pugnax Smith var. *brasiliensis* Oliveira. A uca, ou "chama-maré", ou "cié-cié" que vivem nas "zonas de Uca" a cêrca de 0,5 m de altitude.

Uca leptodactyla. Um dos carangueijos "chama-maré" vivem em areia muito fina e mais limpa.

Uca olympioi Oliveira. Um dos "chama-maré", dos pequenos, de mãozinha muito colorida, predominantemente vermelha.

Phylum MOLUSCA Linnaeus, 1785

Classe GASTROPODA Cuvier, 1798

Cerithium attractum Soberw. Um caramujinho; existem aos milhares nas águas da Baía de Guanabara.

Bulla sp. Encontrada viva na Restinga Nogueira Penido, e morta, na terra sêca da "zona com aroeiras", no local n.º 7 da fig. 1.

Classe PELECIPODA Goldfuss, 1820

Anomalocardia brasiliana Sob. Um marisco "samanguaiá", espécie que predomina em certas épocas na Praia do Samanguaiá. As conchas que seguem aparecem mortas, enterradas no lodo das praias, ou são atiradas, e ficam numa linha de deixa, em uma certa altitude" a zona de detritos de conchas", estas são: *Dosinia concentrica, Solen,* sp., *Macrocalista maculata, Laevicardium laevigatum, Cytheres varians, Amianthis purpurata, Echinochama arcinella, Macoma cleryana, Venus pectorina, Tellina fulvescens, Pitar albidum, Pectunculus largior, Lucina jamaicensis, Lucina quadrisulcata, Merethrix circinata,* sendo que estas conchas mortas foram determinadas pelo Dr. Firmino Tôrres de Castro, em S. Paulo por comparação com a coleção Von Ihering.

Phylum CHORDATA Haeckel, 1874

Classe ASCIDIACEA Blainville, 1825

Tethium plicatum Lessuer. Uma das "maminhas de porca" mais freqüentes na Baía do Rio de Janeiro. Tais acídias ocorrem sòmente em uma época do ano.

Divisão CRANIATA Grobben, 1912
Sub-classe PISCES Linnaeus, 1758

Família Clupeidae

Brevoortia tyranus Bean. São as sardinhas de boca torta que aparecem aos milhares mortas nas praias do Bico de Boto, quando há alteração no regime das águas.

Família Siluridae

Silurus sp. Um dos bagres que são atirados às praias depois das mortandades.

Família Mugilidae

Mugil brasiliensis Agassiz, 1831
Mugil platanus Gunthner.
São as tainhas que são atiradas nas praias da ilha do Pinheiro.

Família Tetraodontidae

Chilomycterus spinosus L. O baiacu de espinho que aparece morto na praia do Sapoti, quando as águas do Canal de Sapucaia têm mortandade de peixe.

Classe AVES Linnaeus,1758

Freqüentam o mangue algumas aves, entre elas as seguintes: *Syrigma sibilatrix* (socó); *Herodias egretta* (garça branca); *Sterna superciliaris* (trinta reis); *Larus dominicanus* (gaivota); *Fregata aquilla* (tesoura); *Crotophaga anu* (anu).

Classe MAMMALIA Linnaeus, 1758
Ordem CETACEA Brisson, 1762

Família Delphinidae

Sotalia brasiliensis L. O boto da Baía de Guanabara. Como era freqüente encontrar cadáveres dêstes animais na ilha do Pinheiro, uma de suas praias ficou com o nome — Praia do Bico de Boto.

FATÔRES GEOGRÁFICOS

A praia do Sapoti é de curvatura côncava, enquanto que a ponta do Sirí-Uçá e as Pontas do Pinheiro com a praia de Samanguaiá são convexas. Pode-se notar que há menos tendência ao atêrro no Sapoti, o mar lava a pedra até dar em rocha de granito, o mesmo acontecendo na Praia do Bico de Boto que é a mesma que segue em linha, no canal de Sapucaia. No Bico de Boto há 2 ou 3 carreiras de árvores de mangue: *Avicennia* e *Laguncularia;* na fig. 6 assinalamos 64 árvores das maiores, em 170 metros de praia, ou seja uma carreira de árvores de 3 em 3

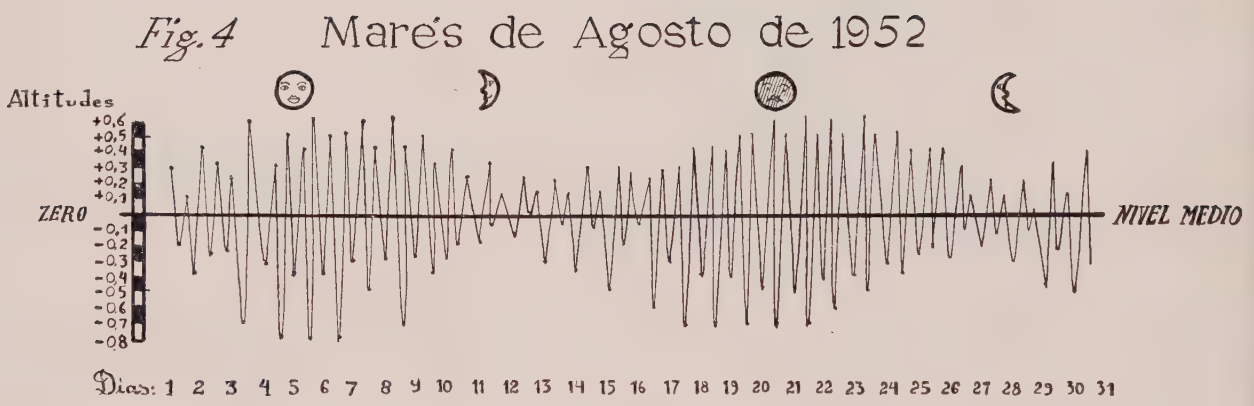


Figura 4 — altura das marés tomadas nas balisas junto à Praia do Pinheiro, em agosto de 1952.

metros, com 2 ou 4 árvores cada carreira, sempre em sentido quase perpendicular à praia. A inclinação que seguem êstes mangues é resultante de um conjunto de fôrças entre as quais a direção predominante do vento e direção onde vêm e vão as vagas que arrebentam na praia. Estas árvores ao morrerem ou ao serem derrubadas são substituídas logo pelas menores que crescem, ocupando a vaga deixada, mas o conjunto do manguesal mantém-se em equilíbrio de população já há muito, pois sua linha de praia é a mesma de 1914. Há vários motivos de não haver tendência ao atêrro nesta parte sudeste da ilha: é dêste lado que a ilha recebe a água de preamar que vem com mais violência de fora da barra; qualquer vento que venha agitar a Enseada de Inhauma quer sejam os ventos que vêm de NE, N, NW, ou W respectivamente, agitam as águas desta enseada, e dão uma arrebentação diária, que castiga a Praia do Sapoti, e é mais forte particularmente de 13 horas até 15 horas, o que já constitui fator impediente para a expansão do manguesal.

Ao contrário, as Praias de Samanguaiá e do Pinheiro que dão para o Canal de Inhauma são protegidas permanentemente dêstes ventos pelos morros do Pinheiro com pouco mais de 20 metros de altitude, e pelos morros do continente: morros do Tibau, de Inhauma. O manguesal só tem a lutar contra a correnteza da maré que não é violenta. O crescimento dêste manguesal é mais subordinado aos fatôres geográficos, hidrográficos, meteorológicos, do que pròpriamente à potência de expansão e ao poder de crescimento das árvores que só medram bem nos locais da Ilha do Pinheiro em que já encontraram êstes fatôres de proteção em graus favoráveis. Aqui na Ilha do Pinheiro, em águas que têm sempre a mesma temperatura, salinidade, mesma proporção de sais nutritivos, de nitratos e fosfatos, foi o fator geográfico: arrebentação um pouco maior, subordinada ao fator meteorológico — vento, o que decidiu sôbre o maior crescimneto da praia de Samanguaiá.

ZONAÇÃO E NIVELAMENTO

Do levantamento topográfico pudemos concluir que: No nível médio do mar começa a zona que passamos a denominar de *Zona dos pneumatóforos,* isto é, dos pneumatóforos das árvores que estão do lado de fora da restinga, em frente ao mar. Esta zona é sempre precedida por uma pequena camada de areia mais grossa que parece que dá mais firmeza ao terreno, fixa melhor a árvore, faz um pequeno degrau com muita terra e areia e animaizinhos presos nos pneumatóforos, êste degrau acha-se entre a zona de pneumatóforos e outra zona que denominamos de "zona sombreada" que desce mar a fora. Os pneumatóforos de fora chegam a ter 30 centímetros, êles vão diminuindo mais por terra a dentro, assim tôdas as suas pontas ficam no mesmo nível. (Fig. 5).

Quando a rampa é mais inclinada como acontece na praia do Sapoti, a zona de pneumatóforos é menor, tem cêrca de 2 metros de largura; quando a rampa é menos inclinada e o terreno é mais plano, a

Figura 5 — perfil junto ao reservatório de água do mar, na Praia do Bico de Boto. Êste perfil representa um corte A-B no mapa da figura 6. Vemos na escala horizontal em 0 o ponto onde vai a maré de sizigia, daí até 9 ou 10 metros encontramos uma rampa que tem muitas pedras e nelas crescem as *Actinias* até 13,5 m a uma zona em rampa, mas sem as actinias, que fica por baixo das árvores de mangue: a zona sombreada. Observando a escala de altitudes percebe-se que chegamos ao nível médio do mar onde também começam os pneumatóforos das árvores de mangue que ficam como se estivessem aparados a 0,2 m de altitude; esta série de pneumatóforos e os animais e vegetais dêste local formam um grupamento natural que chamamos de "zona dos pneumatóforos" (vai de 14 até 20 metros horizontalmente, neste corte A-B). Acima na altitude de 0,30 m está um terreno arenoso, com os carangueijos chama-maré *Uca pugnax,* é a "zona de *Uca*", que ocupa uma faixa de 5 metros de largo na Praia do Bico de Boto. Desde 0,40 até 0,60 m de altitude, vemos os detritos de conchas, que são detritos mais pesados que os de madeira, por isto ocupam uma linha do deixa em altitude pouco menor que a dos grandes detritos que ficam acima de 0,6 m de altitude.

Figura 6 — Planta em escala 1/400 da Praia do Sapoti e trecho da praia do Bico de Boto da Ilha do Pinheiro. Da esquerda para o direita: M — as árvores de mangue na Ponta do Sapoti, acima delas uma rampa de areia grossa G; na praia do Sapoti a linha do nível médio e a linha da baixamar de sizigia, entre estas a praia tem as mesmas pedras apresentadas no perfil da fig. 5, ou na fotografia da figura 18, com Actinias, *Bugula,* vários vermes poliquetas, carangueijos guaiás: *Panopeus herbsti.* Acima do nível médio do mar, em pontilhado: a areia fina. Mais para a direita: em A, A, A.... a zona de *Amphipoda,* as pulgas da praia que procuram uma linha do deixa com lixo, vários detritos e umidade; abaixo em M, M, m, m, a zona de árvores do mangue; a zona dos pneumatóforos está representada por um tracejado horizontal — é uma faixa pequena de poucos metros a baixa-mar. Vê-se duas árvores de *Hibiscus* (o algodoeiro da praia) que ficam no limite da praia com as plantações artificiais da ilha. Em c, c, c,.... as pedras que têm as caracas *Balanus amphitrite* e perto do reservatório em U, U, U.... a zona de *Uca* o carangueijo "chama-maré".

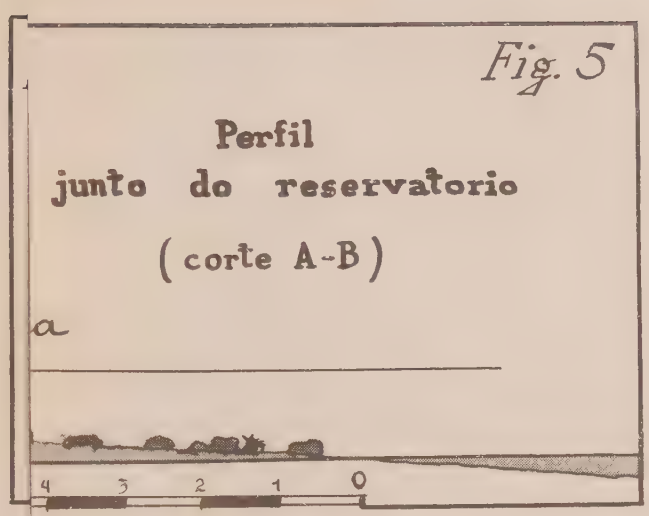



Fig. 5
Perfil
junto do reservatorio
(corte A-B)
a
4 3 2 1 0

a
10 15 20 m.
Fig. 6
Zonas: de Uca :
de Cirripedes
de Amphipoda:
A
BOTO
B
zona sombreada
zona de Actinia

Figura 7 — Planta em escala 1/400 da Praia do Bico de Boto, mapa topográfico e ecológico. 1 — terreno de vegetação artificial, com árvores, plantadas pelo homem. Esta zona está representada em cinza; vê-se à direita "zonações naturais" o que compreende a parte da praia que não sofre influência do homem desde o tempo em que a ilha passou a pertencer ao Instituto Oswaldo Cruz. 2 — pontilhado mostrando a parte de areia fina, na praia. 3 — areia mais grossa, representada por G, G. 4 — reservatório de água do mar, para os aquários. 5 — encanamento que apanha água do mar para a casa das bombas. 6 — tomada de água do mar, ela está na linha da baixa-mar de sizigia, na profundidade de 0,67 m abaixo do nível médio do mar. 7 — árvore de mangue *Avicennia tomentosa,* elas estão na faixa de côr pontilhada escura. 8 — onde estão tôdas as árvores de mangue: Av — Avicennia; M — Rhizophora; L — Laguncularia; m — jovens Lacuncularias; V — árvores grandes de *Avicennia.* Vê-se uma figura irradiada com 2 a 3 metros de raio, representando as raízes das *Laguncularia* que assim se espalham (L). 9 — pés de *Rhizophora* que avança pelo mar a dentro, formando um esporão, onde serão depositadas sedimentações do crescimento natural da praia. 10 — balisa do cabo elétrico submarino de 6.000 volts, situada na linha de baixa-mar de sizigia. 11 — detritos de conchas: *Co,* principalmente de *Anomalocardia brasiliana* (o marisco samanguaiá). 12 — Os locais das linhas do deixa, onde há lixo e umidade, com as pulgas da praia *Amphiroda* (*Orchestia platensis*) em grande número; também os isopodos *Lygia* passeiam por esta e mais outras zonas. 13 — Arbusto de *Hibiscus:* Hib. 14 — a zona sombreada pelas árvores do mangue. 15 — antigo poço do *Anopheles tarsimaculatus,* que era de água doce, e hoje acha-se em comunicação com o mar por um sangradouro artificial. 16 — local onde dominam as *Ucas pugnax.*

restinga.

Figura 8 — Perfil do mapa da figura 9. Êste perfil da "Restinga Nogueira Penido" corta o meridiano de 43° 14' W. G. indicado na seta Norte-Sul do mapa da figura 9. Da esquerda para a direita — uma balisa com as altitudes — mostrando as marés comuns e as marés excepcionais de agosto e de setembro. À distância de 40 metros do mar, na altitude de 1,20 até 1,50 m está a zona de carangueijos guaiamus: *Cardisoma guanhumi,* depois vê-se uma rampa que vai descendo, com as *Uca pugnax* (entre as duas zonas há uma série de facies intermediários; onde a *Uca pugnax* predomina é a faixa situada entre 0,6 e 0,4 de altitude, isto é, as faixas mais altas das marés comuns, e por isto estão diàriamente sôbre a influência das águas de preamar, durante cêrca de 1 a 2 horas. Depois temos uma zona com pneumatóforos das árvores de mangue — seriuba: Avicennia tomentosa. (Neste desenho, que é esquemático, estão representadas 3 árvores quaisquer, para dar uma idéia da localização das mesmas). Os pneumatóforos desta "zona de seriuba" se acham a 0,40 m acima do nível médio do mar. Depois do outro lado a outra parte da "zona de *Uca*". Segue uma rampa até 0,8 m nela o gramado com a *Iresine* uma planta carnudinha de caule avermelhado chamada de "portulaca" misturad por vêzes com a "grama picante": *Paspalum evaginatum.* Êste gramado aqui na ilha do Pinheiro tem 10 metros de largura, e acaba quando vêm as sombras produzidas pelas árvores de mangue num local de praia de "areia média". As árvores que ficam na "zona de mangues" são as *Laguncularia* e as *Avicennia* cujos pneumatóforos do lado de fora da praia ficam no ZERO, no nível médio do mar. Nas próprias árvores estão as caracas formando uma faixa a "Zona de caracas" entre 0,30 e 0,40 m de altitude são as *Balanus amphitrite.* Por fora: as zonas de "sombra de fóra", e "zona de actinias", como na Praia do Bico de Boto. (Esta fig. 8 é da autoria de Edith da Fonseca, desenhista do Instituto Oswaldo Cruz).

Há uma série de pneumatóforos de interior que ficam na altitude de 0,40 m e que são predominantemente das árvores de seriúba, (as *Avicennia tomentosa*), esta zona por seus característicos foi delimitada diferente das outras e chamamos de "zona de pneumatóforos das seriúbas". N.º 6, fig. 9.

Nesta zona de pneumatóforos das seriubas reconhecemos duas partes distintas — divididas pela comporta Nogueira Penido — a parte de leste que é mais alta poucos centímetros, por isto só recebe a água do mar nas luas cheias e novas, e nestes dias ela apanha uma água transparente, depois permanece estagnada durante uns 10 dias até a outra lua, e durante o quarto minguante e crescente tais águas adquirem uma côr verde fortíssima e com a superfície de borra amarelada, cheia de um plancton rico, concentrado de cianofíceas, clorococáceas, diatomáceas, copépodos, cladóceros que constituem um alimento muito usado pela população de caranguejos — *Uca, Ucides, Cardisoma, Goniopsis, Chasmagnathus,* etc. Na outra parte da zona de seriubas, a parte oeste, que está um pouco abaixo de 0,40 m de altitude, a água do mar entra e sai diàriamente, a água está sempre limpa, mas muito mais sujeita a acidentes, como aconteceu em 10 de outubro de 1952 — quando entrou muito petróleo, óleo diesel, e houve uma mortandade geral de *Ucides,* de *Uca,* e de *Chasmagnathus* em tôda a população de caranguejos desta parte da zona de seriubas. Em 12 de outubro em cada toca de *Ucides,* havia o caranguejo, mas morto.

Mais para o interior há um gramado de *Paspalum vaginatum* a 0,6 m de altitude, e depois uma zona com capim da moita e alguns fétos na altitude de 1,3 m. Pela distribuição dada pelo nivelamento podemos avaliar o efeito das águas do mar sôbre todos êstes seres vivos (figura 4): Tomemos como exemplo o mês de agosto de 1952, um dos que têm as marés mais amplas aqui no Rio de Janeiro. Antes da lua cheia as marés oscilam até + 0,4 de altitude e a — 0,4 m de profundidade; vê-se que chegaram a molhar pelo menos durante meia hora, 2 vezes ao dia a "Zona de Seriubas", e a "Zona de Uca". As *Uca* que habitam nas margens só tinham que escavar uns 5 a 10 centímetros de barro para fazer a sua toca até onde dê água. Quando a maré vazava a água ficava retida na "Zona de Seriuba" onde só abaixava muito lentamente. Nestes dias de marés normais, as marés dos dias próximos dos quartos crescente e minguante, a água do mar nunca toca o gramado de *Paspalum vaginatum* que fica a 0,6 m de altitude, êste só é molhado nos dias de grandes preamares de lua nova ou lua cheia, e mais acima, a 0,8 m, a zona de *Iresine* que só leva água do mar em dias excepcionais em que venha a preamar com vento ou com chuvas abundantes. As zonas com "capim da moita" apresentam de vez em quando um ou outro féto de mangue, o *Acrostichum,* ficam a 1,1 m d ealtitude, não sofrem influência das marés, o mesmo acontecendo com a zona de arbustos (13, fig. 9) onde encontramos os jasmins da praia, todos floridos em setembro — *Jasminum* sp. — e as pitangueiras *Eugenia michaelis,* os abios de praia: *Bumelia obtusifolia;* mais para dentro em

Figura 9 — Redução do mapa da restinga Nogueira Penido. Levantado e desenhado por LEJEUNE DE OLIVEIRA. 1 — terreno da Ilha do Pinheiro que tem vegetação artificial, todo êle fica acima da curva de nível de 1,50 m. (N.º 2, fig. 9). 3 — vala dos Porcos, uma coleção de águas paradas quase doces, oligohalinas, que se acham a 1,40 m. 4 — Algodoeiros da praia: *Hibiscus*. 5 — linha que mostra onde era a praia da Seriuba em 1914. 6 — zonas das Seriubas, ou mangues *Avicennia*, seus pneumatóforos ficam na altitude de 1,40 m. 7 — Zona de *Uca pugnax*, ficando a 0,5 m. Misturadas com as *Uca pugnax* estão outros carangueijos tais o *Ucides cordatus* e o *Chasmagnathus granulatus;* esta zona contorna tôda a poça dágua onde estão as seriubas, e segue até tocar quase na Vala dos Porcos; as *Ucas* invadem também um pouco outros locais — os gramados de *Paspalum*, mas em número escasso. 8 — areia fina, onde há mais *Uca leptodactyla* do que *Uca pugnax*. 9 — a "zona de mangues" 10 — a zona de pneumatóforos de fora, que está no Nível Médio do Mar. Há uma entrada para as águas que banham a Zona de Seriubas: uma antiga comporta mandada construir pelo Dr. João CARLOS NOGUEIRA PENIDO, para o estudo biológico destas *Uca*, em seu viveiro natural; hoje ela funciona como um sangradouro, já semiaterrada pelo manguesal que avança 0,80 m por ano pelo mar nesta restinga. 11 — O gramado de *Paspalum evaginatum* a 0,6 m de altitude. 12 — Zona de "capim de moita" com alguns fetos *Acrostichum* entre 1,1 m e 1,3 m de altitude. 13 — depois da altitude de 1,30 m começam a predominar uns arbustos, entre êles algumas pitangueiras e aroeiras, sendo estas mais freqüentes na zona mais sêca a 1,50 m de altitude, aqui encontra-se a "aroeira de cheiro": *Schinus terebentifolius*". 14 — zona mais alta com guaiamus *Cardisoma guanhumi*. 15 — zona de *Iresine* misturada com um gramado de *Paspalum*. (A planta original foi feita em escala de 1/50; a seta Norte-Sul está exatamente no meridiano de 43º 14,2' W. Greenw. onde foi feito o perfil da Fig. 8. Êste meridiano foi determinado apenas por consulta à carta 1502: Pôrto do Rio de Janeiro, da Diretoria de Hidrografia e Navegação de Jan. 1952).

Escala
ALTITUDES
Fig. 3
1 Terreno de vegetação artificial
2 Linha do nível 1,50 m
VALA DOS PORCOS
3 Hidrocole
4
5 Linha de praia em 1919
6 Zona de Seriúbas
7 Zona de Ucas pequenas
8 Areia fina com Ucas depositadas
9 Zona de Mangues
10 Zona de pneumatóforos
ARECHEIAS
ARBUSTOS
GRAMADO DE PEPHILUM
11
12
13
14
15
1,5 m
1,4 m
1,5 m
1,3 m
1,1 m
0,6 m
1,2 m
0,5 m
0,4 m
0,5 m
0,8 m
0,4 m
0,2 m
0,00
Zona de Iresine
areia molhada
RESTINGA
NOGUEIRA PENIDO

terreno muito saibroso, muito sêco, em altitude de 1,50 m encontramos as aroeiras de cheiro *Schinus terebentifolius* (fig. 9, 1,5).

Na zona de gramado de *Paspalum,* quando a grama está pouco mais raza, com menos plantas por superfície, achamos 4 buracos de *Uca* por metro quadrado, e quando está mais fechada há menos tocas de *Uca* por m^2. No terreno que não é gramado, onde se encontra o máximo de *Uca,* na sua zona, há 50 tocas de *Uca* por metro quadrado. Isto acontece quando a rampa vai caindo, pois a *Uca pugnax* vive em zona que é molhada pelo mar ao menos 2 vêzes ao dia. O gramado de *Paspalum* fica mais duro e muito mais picante, quando a grama vai nascendo em terreno mais saibroso, fato que vemos nos limites quando passamos da zona de *Paspalum* para a de arbustos.

Parece-nos que os buracos de *Cardisoma guanhumi* são mais verticais quando cavados debaixo das sombras, e mais oblíquos quando cavados ao sol, em zonas muito iluminadas. As zonas com grande número de guaiamus estão acima de 1,2 m de altitude, não recebem nunca água do mar. (14, fig. 9).

A zona de *Uca pugnax* na restinga Nogueira Penido continua em uma vala e fica no nível de 0,50 m, pois nesta vala, até ao fim, entra a água do mar. Os fétos (acrósticos) exigem um terreno sempre mais úmido (pelo menos êstes da ilha do Pinheiro) pois crescem perto da vala de águas oligohalinas — a Vala dos Porcos — (N.º 3, fig. 9).

Nos locais em que encontramos as aroeiras *Schinus terebentifolius* a terra é dura, sêca, saibrosa, próximo há buracos de guaiamus, há numerosas conchas sêcas de *Dosinia,* de *Anomalocardia* e de *Bula.* Até agora sòmente encontramos estas conchas de *Bula,* vivas, na "Zona das Seriubas", a 0,40 m de altitude, parecem numerosíssimos caroços de azeitona espalhados entre os pneumatóforos. As cascas de *Ucides* e de *Goniosis* são encontradas mais abundantemente em outubro.

Na zona de guaiamus, (n.º 14, fig. 9) há aproximadamente de 1,5 m em 1,5 m de terreno um buraco dêste crustáceo; êles desmontam terra de seu buraco, na razão de 1 quilo cada semana, aumentando assim a altura de sua toca de cêrca de 5 centímetros, mas esta altura não persiste muito, isto significa na ilha um trabalho semanal de remover e amassar 11 toneladas de barro.

Há na restinga do Pinheiro (n.º 8, fig. 1) uma zona com *Salicornia* que é homogênea, e fica sòmente 5 centímetros mais baixa que a de *Paspalum* é de terra mais grossa e tem 50 ucas por cada metro quadrado.

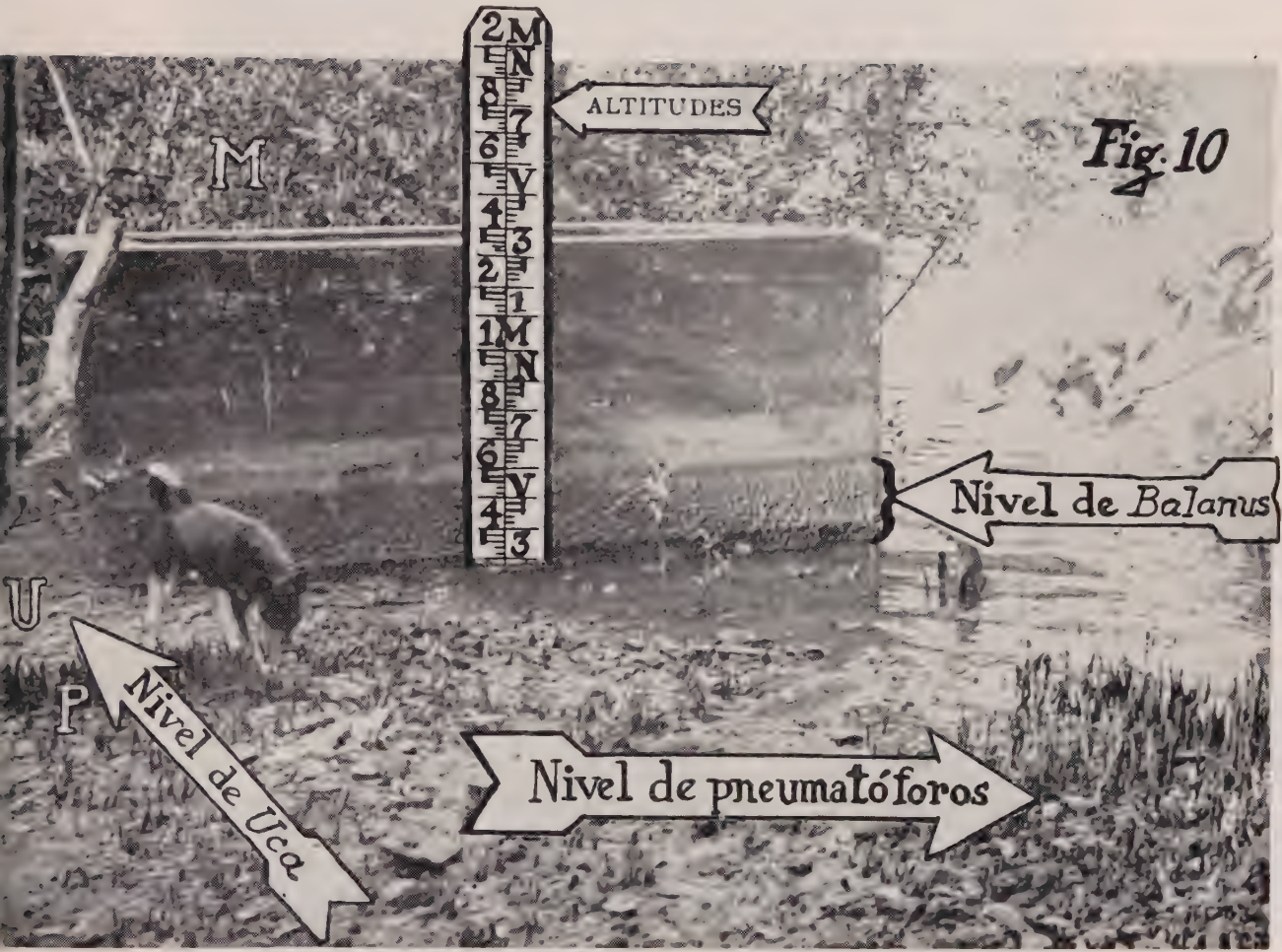


Figura 10 — Reservatório de água do mar na Praia do Bico de Boto. No reservatório as altitudes foram marcadas, e nitidamente vê-se a zona das caracas, dos cirrípedes *Balanus* entre 0,3 e 0,5 m acima do nível médio do mar. No nível médio do mar os Pneumatóforos (P), pouco acima a zona de *Uca* (U), atrás as árvores de mangues *Avicennia* e *Laguncularia* (M).

Figura 13 — Fotografia da Zona de *Salicornia*, os buracos de *Uca* (U). Êste campo de *Salicornia* está também na fotografia da Fig. 15, S.

Figura 14 — O Viveiro do Pinheiro (no Mapa da Fig. 1 é o n.º 14), fotografado na ocasião em que as águas estavam no nível médio do mar. Em P: *Paspaletum* na altitude de 0,6 m e no fundo em M o manguesal com as árvores de 16 anos de idade, as *Aricennia* com 7 metros de altura.

Figura 15 — No local 8 do mapa da Fig. 1 — *Hibiscus tiliaceus* (H), a sua frente a zona de Salicórnias (S): Altitude 0,6; em I as *Iresinae* crescem na altitude 0,8 m; em T zona mais alta, sêca, com a aroeira de cheiro, a aroeira terebentinosa; L — *Laguncularietum*. Em M a zonação com o "capim da moita".

Figura 16 — Salicórnias. Na trena, cada traço é de 1 cm.

Figura 17 — Buracos de guaiamus *Cardisoma guanhumi*, entre os "capins de moita".

Figura 18 — A Praia do Bico de Boto, na hora da grande baixamar. 1 — a tomada de água do mar no Canal da Sapucaia. 2 — pedras com actinias, a maré está neste momento a — 0,7 (menos 0,7) no limite mínimo em lua cheia de agosto. 3 — balisa indicadora de cabo elétrico submarino (está desfocalizada). 4 — Ilha da Sapucaia, já ligada por atêrro à ilha do Bom Jesus, onde aparecem em construção as obras da Cidade Universitária. A zona a descoberto é a Zona das Actinias.

Figura 19 — Na Praia do Pinheiro, em **FE**, do mapa da fig. 1 — pilastras de uma antiga comporta de um antigo viveiro "Viveiro Ferro Velho". — 1 — zona de areia a 0,4 m de altitude, com *Uca pugnar, Uca maracoani,* 2 — pilastra do Viveiro Ferro Velho, hoje caminho que vai à casa do Motorista, durante a baixamar. 3 — zona de pneumatóforos do interior, na altitude de 0,40 m.

Figura 20 — (local n.º 3, do mapa da fig. 1). A — zona de areia, com *Uca leptodactyla*, altitude 0,5 m; M — mangues de *Avicennia* com as raízes espalhadas.

Figura 21 — O *Laguncularietum* de interior, êste proliferou por causa da vala. (N.° 10, fig. 1). Êle está em L, mais para dentro e em altitude menor que a do gramado G.

Figura 22 — Derrubada de árvores na Praia do Pinheiro. 1 e 2 — raiz de uma árvore de mangue arrancada por marítimos com cabo de aço prêso ao rebocador. 3 e 4 — raízes de outra árvore. 5 buracos dos caranguejos verdadeiros *Ucides cordatus*. 6 — pneumatóforos de *Avicennia*.

Figura 23 — Na praia do Samanguaiá — os mangues sapateiros, com suas raízes adventícias, nelas vemos as caracs *Balanus amphitrite* (esta zona está a 0,3 até 0,4 acima do nível médio).

Figura 24 — A praia do Samanguaiá na mais baixa maré de sizigia. Vê-se o Sr. Vigia do Prédio da Estação de Hidrobiologia ao lado das árvores de *Rhizophora mangle*.

Figura 25 — As mesmas árvores da fig. anterior. 1 — pedras debaixo das quais se esconde o *Panopeus herbsti* caranguejo prêto, ou "guaiá", suas pedras estão sempre debaixo d'água, só ficando a descoberto nas marés de lua nova e lua cheia de muita amplitude. 2 — Conchas dos samanguaiás, os mariscos *Anomalocardia brasiliana*. 3 — zona de caracas nas árvores *Rhizophora mangle;* estas árvores têm 16 anos.

Figura 26 — A entrada do antigo Viveiro Ferro Velho em 1. 2 — zona arenosa, em que vive a *Uca leptodactyla*. Vemos os 2 tipos de caules: 1 liso nas árvores de *Avicennia*, o outro (à direita) mais rugoso, de *Laguncularia*. Nas pedras, limo verde de *Bulbocaceae*.

Figura 27 — a 100 metros para dentro da praia do Pinheiro, (no mapa da fig. 1, n.º 7) a zona de aroeiras de cheiro: *Schinus terebentifolius* em terreno sempre sêco, a 1,35 m de altitude.

Figura 28 — Efeito de vendaval, derrubada de árvores pelo vento de 7 de janeiro de 1953.

Figura 29 — O *Avicennietum,* novo, de 16 anos da Restinga Nogueira Penido.

Figura 3′ — Vista da Restinga Nogueira Penido: As *Avicennia,* à entrada de água do mar.

A doença de Chagas na Infância *

por

J. Pellegrino ** e **Celso Lobo de Rezende** ***

INTRODUÇÃO

Os resultados de uma série de trabalhos sôbre a morbilidade da doença de Chagas, realizados nestes últimos anos, em diversos países sul-americanos, nos autorizam, como já previra CARLOS CHAGAS, a "considerar a eschizotripanose como uma das infecções tropicaes mais maleficas, quer como causa immediata de grande lethalidade, especialmente das creanças nas zonas contaminadas, quer como a determinante de uma condição morbida chronica que inutiliza o individuo para a actividade vital, quer finalmente como um factor importante de degeneração humana".

Duas ordens de fatores, principalmente, contribuiram, de modo decisivo, para que a esquizotripanose assumisse a atual posição de destaque no quadro nosológico tropical e passasse a figurar como um dos principais problemas de ordem médico-social em vários paises atingidos por esta endemia:

1.º — a individualização da cardiopatia crônica da doença de Chagas em bases clínicas, anatomo-patológicas, eletrocardiográficas e experimentais; a demonstração de sua grande freqüência nos indivíduos infectados e a verificação de que, em certas zonas rurais, a esquizotripanose constitui um dos mais importantes fatores etiológicos de cardiopatia;

2.º — a experiência adquirida com o emprêgo da reação de fixação do complemento feita com antígenos de cultura do *Schizotrypanum cruzi*, permitindo uma confirmação rápida e bastante segura dos casos crônicos de esquizotripanose, diagnosticados clinicamente, e possibili-

---

* Trabalho do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz, em Belo Horizonte, e da Cadeira de Clínica Pediátrica Médica e Higiene Infantil da Universidade de Minas Gerais. Apresentado à VI Jornada Brasileira de Pediatria e Puericultura. Belo Horizonte, setembro de 1952.

** Da Secretaria de Saúde e Assistência de Minas Gerais, em comissão no Instituto Oswaldo Cruz.

*** Assistente da Cadeira de Clínica Pediátrica Médica e Higiene Infantil da Universidade de Minas Gerais.

tando, quando feita em larga escala, uma avaliação bem aproximada da incidência da doença de Chagas em populações de zonas endêmicas.

A utilização de inseticidas de ação letal e de prolongada ação residual para os triatomíneos — na falta de uma terapêutica adequada que viesse beneficiar a grande massa de indivíduos já infectados, e, na impossibilidade atual de serem resolvidos, de modo concreto e amplo, os problemas básicos da estrutura econômico-social vigente — tornou possível o desenvolvimento de campanhas sanitárias em larga escala visando a profilaxia desta endemia pelo combate aos seus transmissores domiciliares.

As seguintes razões conferem, ao estudo da doença de Chagas na infância, particular destaque:

a) — de um modo geral, a esquizotripanose se instala em crianças de baixa idade, nelas assumindo o caráter de uma infecção grave, podendo acarretar não raramente a morte, pelo ataque agudo ao coração ou ao sistema nervoso;

b) — as manifestações da fase crônica da doença, em geral de aparecimento tardio, podem ser encontradas já na infância, especialmente quando o início da infecção se estabelece precocemente, nos primeiros anos de vida.

A análise dos trabalhos publicados sôbre a esquizotripanose, desde a descoberta da doença até os nossos dias, põe em evidência um fato aparentemente paradoxal: uma doença que se manifesta tão exuberantemente na infância, com grande morbilidade e acentuada letalidade, não tem recebido, do pediatra e do puericultor, a atenção merecida, e tem constituido, quase que exclusivamente, objeto de estudo por parte de tropicalistas especializados. Um dos fatores que muito concorre para este alheiamento tem sido a falta de uma divulgação suficiente, no meio médico em geral, e, principalmente, entre aqueles que lidam com crianças, dos estudos realizados sôbre esta doença pelos especialistas.

Na presente Jornada Brasileira de Pediatria e Puericultura, por feliz iniciativa de seus organizadores, o problema da "Doença de Chagas na Infância" foi incluido entre os temas oficiais do Conclave. Este fato bem demonstra o interesse despertado ultimamente para o estudo de tão importante capítulo da patologia tropical. Com a principal finalidade de contribuir para u'a maior divulgação, entre os pediatras, dos conhecimentos gerais sôbre a esquizotripanose, resolvemos realizar o presente trabalho. Nele salientamos as contribuições mais recentes e demos maior desenvolvimento aos capítulos diretamente relacionados com este problema na infância.

SINONÍMIA

Moléstia de Chagas.
Esquizotripanose.
Tripanosomose americana.
Denominação popular: *doença do barbeiro.*

DEFINIÇÃO

A doença de Chagas é uma infecção de caráter endêmico, de evolução geralmente crônica e com acentuado cardiotropismo, causada por um hemoflagelado da família *Trypanosomidae*, o *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909, e transmitida por hemípteros hematófagos da sub-família *Triatominae*.

HISTÓRICO

Em 1909 assinalou Carlos Chagas, no interior do Estado de Minas Gerais (Brasil), uma nova entidade mórbida do homem, causada por um novo tripanosoma por ele descrito no mesmo ano.

Com as seguintes palavras descreveu o grande tropicalista a série metódica, firme e perseverante de raciocínios, deduções e investigações que o conduziram à notável descoberta que o imortalizou:

"A ocorrencia de grande epidemia de malaria em operarios do Governo, nos Trabalhos de construcção da Estrada de Ferro Central do Brasil, no valle do Rio das Velhas, fez com que fossem solicitadas, pelo Ministro Miguel Calmon, providencias a Oswaldo Cruz. Este attendeu pressuroso á solicitação e, empenhado em prosseguir nas campanhas anti-paludicas, com exito executadas em outras regiões do paiz, resolveu confiar-me o encargo das medidas sanitarias.

"Em companhia do Dr. Belisario Penna, por mim convidado para auxiliar da missão, segui para os sertões mineiros e lá nos installamos nas margens no Rio Bicudo, onde permaneciam, retardados pela intensa epidemia, os trabalhos da via ferrea. Iniciamos ahi a prophylaxia da malaria e della conseguimos resultados dos mais propicios, o que permittiu prosseguimento regular dos serviços de construcção. Mais de um anno permanecemos naquella zona, sem que houvessemos sabido da existencia alli, nas choupanas dos regionaes, de um insecto hematophago, denominado vulgarmente barbeiro, chupão ou chupança. Já nessa epocha tivemos opportunidade de realizar vasta observação clinica, e de estudar numerosos casos morbidos nos habitantes da região, tanto naquelles sujeitos á infecção paludica, porque residiam em valles de grandes e pequenos rios, quanto ainda em outros, que habitando zonas mais ou menos elevadas ou montanhosas, nenhum signal apresentavam de malaria.

"E desde então foi-nos penosa a absoluta impossibilidade de classificar, no quadro nozologico conhecido, muitos dos casos morbidos que se offereciam ao nosso estudo. Nem valiam, para elucidação do diagnostico, os recursos experimentaes do laboratorio, e nem decidiam os elementos da semiotica mais segura e meditada. Alguma coisa de novo, nos dominios da pathologia, ahi perdurava desconhecida, e se impunha á nossa curiosidade.

"Numa viagem a Pirapora, e quando pernoitávamos, o Dr. Belisario Penna e eu, no acampamento de engenheiros, encarregados dos estudos

da linha ferrea, conhecemos o barbeiro, que nos foi mostrado pelo Dr. CANTARINO MOTTA, chefe da comissão de engenheiros.

"O papel de diversos hematophagos na transmissão de doenças humanas, e na de algumas trypanosomiases de mammiferos, orientou agora o meu raciocinio e levou-me a conseguir novos exemplares do insecto, afim de pesquizar no tubo digestivo delles ou nas glandulas salivares, qualquer parasito, do qual fosse o barbeiro o hospedador intermediario. Dissecando os insectos, no intestino posterior de cada um encontrei numerosos flagellados, que apresentavam os caracteres de crithidias. Esta verificação conduziu-me a duas hypotheses: ou seria o flagellado observado parazito natural do insecto, sem qualquer acção pathogenica, ou representaria estadio evolutivo de um hemoflagellado de vertebrado, quiçá do proprio homem.

"Assim orientado, iniciei, a nova phase de meus trabalhos pela pesquiza do trypanosoma naquelles individuos cuja condição morbida obscura escapava minha interpretação. Quantas tentativas de principio realizei, visando encontrar o trypanosoma, foram sempre negativas, facto posteriormente explicado pela ausencia do parazita, no sangue peripherico, e sua localização exclusiva na intimidade dos tecidos, em taes doentes. As minhas observações foram realizadas em residencias humanas, abundantemente infestadas de triatomas e numa dellas quando insistia na pesquiza do protozoario, encontrei um gato, evidentemente doente, em cujo sangue verifiquei a presença do Trypanosoma cruzi. Nenhuma conclusão definitiva, porem, autorizava esse achado, porquanto, sendo o gato um animal domestico que pernoita nas residencias humanas, deveria ser tambem sugado pelos insectos e não poderia constituir maior surpreza sua infecção. E, alias, em pesquizas posteriores, repeti multiplas vezes a mesma verificação, o que me levou a considerar aquelle animal um reservatorio do parazito, e por isso mesmo um elemento epidemiologico da doença.

"Insistindo em meus trabalhos, e devo affirmar que o fazia com fundamentada segurança de exito, tive opportunidade de surprehender febricitante uma creança, residente na casa onde eu havia verificado a infecção de um gato. É de referir que talvez 15 ou 20 dias antes, pernoitara eu na habitação daquella doentinha, e ahi tive ensejo de observar grande numero de insectos picando os habitantes, inclusive a creança agora febril, e que então se apresentava absolutamente hygida".

A série de trabalhos desenvolvidos por CHAGAS e colaborados no interior de Minas, e, mais particularmente, em Lassance (Minas) e no Instituto Oswaldo Cruz (Rio), para onde foi canalizada grande massa de material, cobre um longo período de quase 30 anos. Neste espaço de tempo, CHAGAS e pesquisadores que, sob a sua orientação, trabalharam em Lassance e em Manguinhos, descreveram a nova doença nas suas diversas modalidades clínicas, estudaram minuciosamente seu agente etiológico, a biologia dos transmissores, realizaram investigações experimentais, estudos sôbre a patogenia e anatomia patológica, desen-

volveram métodos para o diagnóstico, analizaram o papel dos reservatórios domiciliares e silvestres e mostraram repetidamente a significação social deste importante problema sanitário "ligado aos mais altos interesses econômicos e ao aperfeiçoamento progressivo da nossa raça, nas zonas rurais".

Descoberta e estudada em seus aspectos fundamentais no Brasil, foi a doença de Chagas sucessivamente descrita na República do Salvador (Segovia, 1913), na Venezuela (Tejera, 1919), no Perú (Escomel, 1919), na Argentina (Mühlens, 1924), no Equador (Arteaga, 1929), no Panamá (Miller, 1931), na Guatemala (Reichenow, 1933), no Uruguai (Talice e cols., 1937), no Chile (Gasic, 1939), no México (Brumpt e cols., 1939), no Paraguai (Gonzales & Rivarola, 1940), na Guiana Francesa (Floch & Tasqué, 1940), na Costa Rica (von Büllow, 1941), na Colômbia (Otalora, 1942) e na Bolívia (Mazza & Chacon, 1943).

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E INCIDÊNCIA

A doença de Chagas foi descrita em todos os paises da América do Sul, com exclusão das Guianas inglêsa e holandêsa. Na América Central é conhecida no Panamá, Costa Rica, Guatemala e Salvador. Na América do Norte foi assinalada no México. Nos Estados Unidos, além do encontro de várias espécies de triatomíneos naturalmente infectados pelo *S. cruzi,* foram apresentadas evidências sorológicas e clínicas sôbre a possibilidade da existência da esquizotripanose na zona sul do país.

A incidência da doença de Chagas nas zonas endêmicas está condicionada, em primeiro plano, ao nível econômico-social da região, sendo tanto maior quanto mais precários os tipos de habitação e mais baixas as condições higiênicas. Nas casas de construção primitiva, como as cafuas de pau-a-pique (fig. 1), os mocambos e os abrigos cobertos de taipa ou sapê, encontram os triatomíneos condições as mais favoráveis para o seu desenvolvimento. Às vezes, o número de transmissores em uma cafua sobe a alguns milhares, sofrendo então os moradores apreciável expoliação sanguínea. Importa também, na prevalência da esquizotripanose, o grau de adaptação domiciliar do triatomíneo transmissor e a sua capacidade de se infectar pelo *S. cruzi*.

A casuística da doença de Chagas subiu consideravelmente depois que a reação de fixação do complemento passou a constituir o elemento de laboratório fundamental na evidenciação dos indivíduos com infecção crônica. Assim, em São Paulo, a casuística era de apenas 19 casos para tôdo o Estado, em 1942. Atualmente, só na capital paulista, ultrapassa a 800 o número de indivíduos com reação de fixação do complemento positiva. Em Bambuí, pequena cidade do oeste de Minas, foram confirmados para mais de 1000 casos e em Belo Horizonte a casuística já ultrapassa 700, não sendo êstes, todavia, autóctones.

Fig. 1 — A: **Cafúa de pau-a-pique**, habitação propícia à proliferação dos transmissores da doença de Chagas. *B:* detalhe de construção.

A aplicação da reação de fixação do complemento feita com antígenos de *S. cruzi*, em grupos de indivíduos tomados sem seleção, permitiu que fossem determinados índices de prevalência da esquizotripanose em diversos países. A tabela I resume parte dos resultados até agora obtidos, e representa apenas a etapa inicial de uma série de estudos que, nestes últimos anos, estão se desenvolvendo nestes países.

O xenodiagnóstico e os demais métodos de demonstração direta ou indireta do agente causal da esquizotripanose, constituem elementos

TABELA-1

INDICES DE PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE CHAGAS EM DIVERSOS PAISES, DETERMINADOS PELA REAÇÃO DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO

PAISES	TOTAL DE REAÇÕES	PERCENTAGEM DE REAÇÕES POSITIVAS	AUTORES	OBSERVAÇÕES
BRASIL MINAS GERAIS	181	19,9	PELLEGRINO & BORROTCHIN 1948	INQUÉRITO EM PACIENTES INTERNADOS NA SANTA CASA DE MISERICORDIA DE BELO HORIZONTE
BRASIL MINAS GERAIS	443	9,7	DINIZ & PELLEGRINO, 1948 DINIZ, 1949	INQUÉRITO EM LEPROSARIOS DE MINAS GERAIS
BRASIL MINAS GERAIS	576	2,5	PELLEGRINO & COLS 1951	INQUÉRITO EM CANDIDATOS A DOADORES DE SANGUE
BRASIL MINAS GERAIS	133	46,8	PELLEGRINO & BRENER 1952	INQUÉRITO FEITO EM ARAXÁ
BRASIL MINAS GERAIS	219	45,7	PELLEGRINO & BRENER 1952	INQUÉRITO FEITO EM UBERABA
BRASIL MINAS GERAIS	1432	60,4	DIAS 1950	INDIVIDUOS NÃO SELECIONADOS DO MUNICIPIO DE BAMBUÍ. REAÇÕES FEITAS POR PELLEGRINO & BRENER
BRASIL MINAS GERAIS	183	6,7	PELLEGRINO & BRENER 1951	INQUÉRITO FEITO NA CIDADE INDUSTRIAL (CONTAGEM)
BRASIL MINAS GERAIS	334	39,1	DIAS & COLS 1948-1950	INQUÉRITO FEITO ENTRE TRABALHADORES E FAMILIARES DA REDE MINEIRA DE VIAÇÃO
BRASIL	143	28,4	FARIA & COLS 1948	INQUÉRITO FEITO EM SOLDADOS RECEM-INCORPORADOS NA 2a. REGIÃO MILITAR
BRASIL SÃO PAULO	979	54,9	RAMOS & COLS 1949	INQUÉRITO FEITO EM MORADORES DE CASSIA DOS COQUEIROS
BRASIL SÃO PAULO	1622	2,2	FREITAS & COLS 1952	INQUÉRITO EM CANDIDATOS A DOADORES DE SANGUE
BRASIL SÃO PAULO	1887	7,5	FREITAS 1952	REAÇÕES FEITAS EM MORADORES DO INTERIOR DE SÃO PAULO
BRASIL SÃO PAULO	115	9,5	FREITAS & COLS 1950	HABITANTES RURAIS DE SÃO CARLOS, DESCALVADO E BROTAS
BRASIL SÃO PAULO	99	22,0	FREITAS & ALMEIDA 1951	INQUÉRITO FEITO EM MORADORES DE ECHAPORÃ
BRASIL SÃO PAULO	3709	20,2	UNTI & SILVA 1951	REAÇÕES FEITAS EM MORADORES DO INTERIOR DE SÃO PAULO
BRASIL GOIAZ	94	28,7	FREITAS & MENDONÇA 1951	MORADORES DE RIO VERDE E MONTEVIDIU
BRASIL CEARÁ	200	8,5	JUCÁ & CUNHA 1950	REAÇÕES FEITAS EM QUIXADÁ
CHILE	10666	14,2	NEGHME & COLS 1949	INDIVIDUOS NAO SELECIONADOS DE ZONAS ENDEMICAS
ARGENTINA	94	40,5	ROMAÑA & KIRCHBAUM 1951	HABITANTES DE ANDALGALÁ (CATAMARCA)
BOLIVIA	301	23,9	ROMAN & COLS 1948	MORADORES RURAIS DE COQUIMBO
EQUADOR	1153	9,8	MONTALVAN 1950	INDIVIDUOS DE VARIAS LOCALIDADES DO EQUADOR
EQUADOR	553	8,3	RODRIGUEZ 1950	PACIENTES INTERNADOS NO HOSPITAL GENERAL DE GUAYAQUIL
PANAMÁ	1251	3,0	JOHNSON & KELSER 1937	INDIVIDUOS MORADORES EM VÁRIAS LOCALIDADES DO PANAMÁ
MEXICO	48	7,5	PERRIN & COLS 1947	MORADORES DE CAFUAS INFESTADAS POR TRIATOMINEOS EM APATZINGÁN
ESTADOS UNIDOS (TEXAS)	1909	0,05	DAVIS & SULLIVAN 1946	SOMENTE 1 RESULTADO POSITIVO EM UM MENINO DE 8 ANOS

precários quando utilizados na determinação de índices de prevalência; os resultados proporcionados são sempre inferiores aos índices reais.

Na avaliação da incidência da doença de Chagas, somente os índices de prevalência representam elementos significativos e comparáveis. As casuísticas globais pouco dizem, mormente agora que os casos crônicos podem ser reunidos às centenas por meio da reação de fixação do complemento, mesmo fora das zonas de endemia.

A determinação da incidência da esquizotripanose em crianças, realizada ultimamente, quer pela reação de fixação do complemento, quer pelo xenodiagnóstico, tem posto em evidência, pelos elevados índices obtidos, a importância desta doença na morbilidade infantil (tabela 2).

TABELA-2
INDICES DE PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE CHAGAS EM CRIANÇAS, DETERMINADOS PELO XENODIAGNOSTICO E PELA REAÇÃO DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO

PAISES	XENODIAGNOSTICOS REALIZADOS	REAÇÕES DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO	PERCENTAGEM DE PROVAS POSITIVAS	AUTORES	OBSERVAÇÕES
ARGENTINA	144	-	23,7	ROMAÑA & COLS 1946	ALUNOS DE GRUPOS ESCOLARES DE TUCUMAN, SANTIAGO DEL ESTERO E CATAMARCA
ARGENTINA	233	-	9,9	ROMAÑA 1948	MENINOS DE IDADE ESCOLAR DE DIVERSAS PROVINCIAS E TERRITORIOS ARGENTINOS
ARGENTINA	200	-	11,5	BRIONES 1951	MENINOS DE IDADE ESCOLAR DE LA PAMPA
URUGUAI	483	-	7,2	TALICE 1938	MENINOS MENORES DE 14 ANOS DE RIVERA E TACUAREMBÓ
BRASIL SÃO PAULO	-	105	42,7	FREITAS 1948	ALUNOS DE GRUPOS ESCOLARES DE ITAPORANGA
BRASIL SÃO PAULO	-	118	5,9	FREITAS & COLS 1950	ALUNOS DE GRUPOS ESCOLARES DE SÃO CARLOS E RIBEIRÃO BONITO
BRASIL SÃO PAULO	-	411	12,9	FREITAS & ALMEIDA 1951	ESCOLARES DE ECHAPORÃ
BRASIL GOIAZ	-	115	2,6	FREITAS & MENDONÇA 1951	ALUNOS DE ESCOLAS PRIMARIAS DE RIO VERDE
BRASIL MINAS GERAIS	-	200	1,0	PELLEGRINO & REZENDE 1952	ALUNOS DO GRUPO ESCOLAR "JOÃO PESSÔA" DE BELO HORIZONTE
BRASIL MINAS GERAIS	-	200	7,0	REZENDE & COLS 1952	CRIANÇAS INTERNADAS EM HOSPITAIS DE BELO HORIZONTE
BRASIL MINAS GERAIS	-	207	9,6	PELLEGRINO & COLS 1952	CRIANÇAS DE VARZEA DA PALMA (MUNICIPIO DE PIRAPORA)
BRASIL BAHIA	-	150	22,7	GESTEIRA 1951	ALUNOS DE GRUPO ESCOLAR DE SÃO SALVADOR

ETIOLOGIA

O *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909 — agente etiológico da doença de Chagas — é um protozoário da classe *Mastigophora*, família *Trypanosomidae*. No gênero *Schizotrypanum*, intermediário entre *Leishmania* e *Trypanosoma*, estão incluidos os hemoflagelados com multiplicação intracelular obrigatória sob a forma de leishmânia, e que não se dividem no sangue circulante sob a forma de tripanosoma.

O *Schizotrypanum cruzi* apresenta aspectos morfológicos diversos, conforme seja considerado no organismo do vertebrado ou no inseto transmissor.

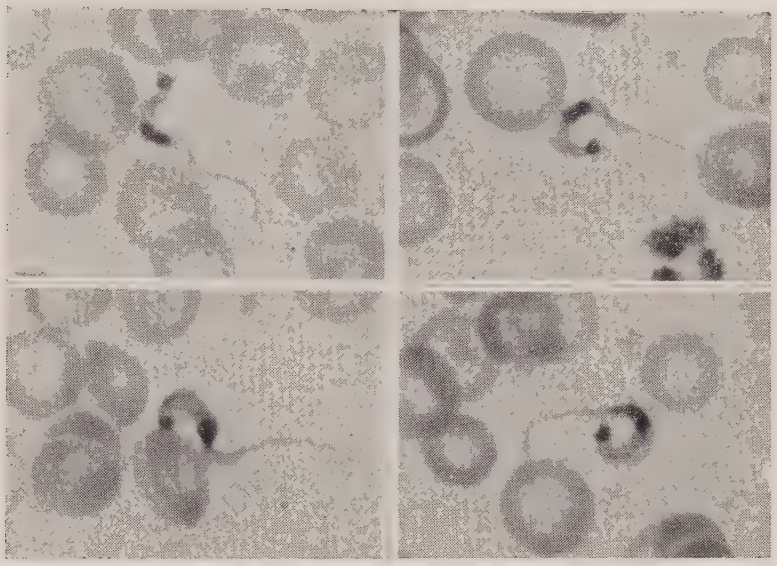


Fig. 2 — **Schizotrypanum cruzi no sangue circulante.** Caso agudo de doença de Chagas. Notar o cinetoplasto volumoso e o núcleo ovoide situado mais próximo à extremidade anterior do corpo do parasito. X 2000.

No homem e nos outros vertebrados apresenta-se sob a forma de tripanosoma, no sangue circulante (fig. 2), e de leishmânia, nas células dos tecidos parasitados (fig. 3). As formas sanguícolas do *S. cruzi* caracterizam-se pelo cinetoplasto volumoso e núcleo ovoide situado mais próximo à extremidade anterior do corpo do parasito. O comprimento total é de cerca de 20 μ. As formas de multiplicação do *S. cruzi* encontram-se no interior das células dos mais variados tecidos. São constituídas por elementos arredondados (formas em leishmânia), sem flagelo livre e sem membrana ondulante e com cinetoplasto em bastonete (fig. 3). Provavelmente, a passagem das formas em leishmânia para tripanosoma se processa através das formas intermediárias de leptômonas e critídia.

No inseto transmissor, o *S. cruzi* apresenta-se sob as formas de leishmânia, critídia e tripanosoma metacíclico. As critídias representam as formas de multiplicação e garantem a continuidade da infecção no inseto. Os tripanosomas metacíclicos, oriundos das critídias, são os elementos infectantes e se encontram em abundância no intestino posterior do inseto, sendo eliminados com as dejeções.

O *S. cruzi* desenvolve-se facilmente nos meios de cultivo comumente empregados para hemoflagelados. A cultura em massa pode ser obtida em meio de Noeller, mantido a 28° C.

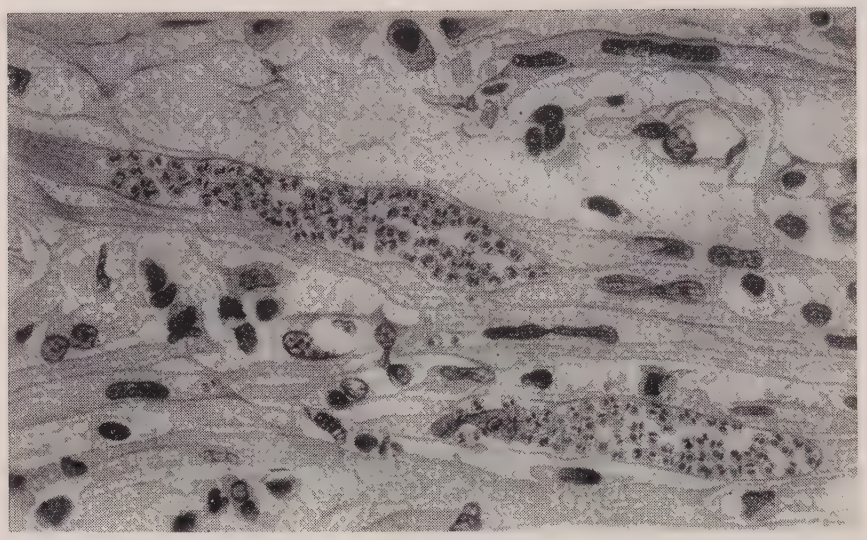


Fig. 3 — **Formas de multiplicação (leishmanias) do Schizotrypanum cruzi nos tecidas.** Fibras cardíacas parasitadas (Seg. Chagas, 1916).

EPIDEMIOLOGIA

AGENTES TRANSMISSORES

São insetos pertencentes à ordem *Haemiptera,* família *Reduviidae,* sub-família *Triatominae*. Cerca de 100 espécies de triatomíneos já foram descritas e se acham distribuidas nos seguintes gêneros: *Belminus, Bolbodera, Cavernicola, Dipetalogaster, Eratyrus, Linchosteus, Neotriatoma, Nesotriatoma, Panstrongylus, Parabelminus, Paratriatoma, Psammolestes, Rhodnius e Triatoma*. Dos diversos gêneros pertencentes à família *Reduviidae,* 3 têm maior importância médica, sob o ponto de vista da epidemiologia da doença de Chagas: os gêneros *Triatoma, Panstrongylus* e *Rhodnius*. Mais de 30 espécies foram encontradas naturalmente infectadas pelo *S. cruzi*. A tabela 3 inclui dados publicados por Autores de diversos paises sôbre o índice de infecção natural, de algumas espécies de triatomíneos, pelo *S. cruzi*.

A importância epidemiológica de uma dada espécie de *Triatominae,* como agente transmissor da doença de Chagas, é avaliada pela extensão da área correspondente à sua distribuição geográfica, pelo grau de sua adaptação ao domicílio humano e por sua capacidade de se infectar pelo *S. cruzi*. No Estado de Minas Gerais, por exemplo, três são as principais espécies transmissoras: *Panstrongylus megistus, Triatoma*

infestans e *Triatoma sordida*. Em relação à área de distribuição no Estado, o *T. sordida* ocupa o segundo lugar. Entretanto, relativamente ao *P. megistus* e ao *T. infestans*, esta espécie desempenha papel secundário na transmissão da doença, pois seu grau de adaptação domiciliar não é grande e é baixo seu índice de infecção natural (tabela 3).

No Brasil, as espécies transmissoras mais importantes são: *Panstrongylus megistus, Triatoma infestans, Triatoma brasiliensis* e *Triatoma sordida*. O *T. infestans* (fig. 4, B) é o principal vector da doença no Estado do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo e em certas zonas de Minas Gerais (Sul, Oeste, Triângulo). O *P. megistus* (fig. 4, A) é a espécie mais difundida, representando, a partir das zonas central e norte do Estado de Minas, até o norte do país, a espécie de maior importância epidemiológica. O *T. brasiliensis* é muito difundido no norte do Brasil. De um modo geral, os maiores índices de infecção natural foram encontrados no Rio Grande do Sul, onde o *T. infestans* é o principal vector (tabela 3).

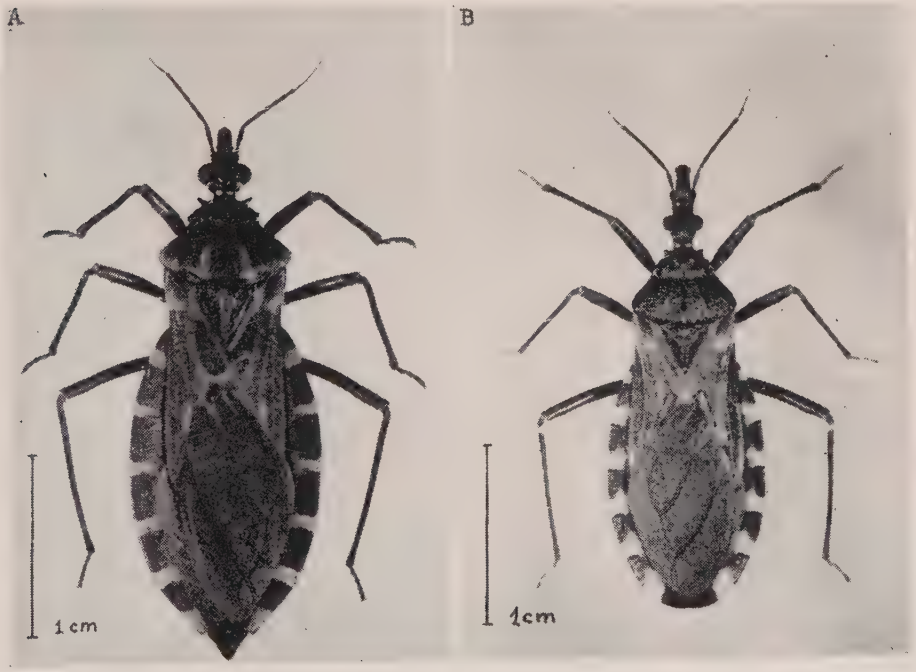


Fig. 4 — **Principais transmissores da doença de Chagas no Brasil.** *A — Panstrongylus megistus; B — Triatoma infestans.* Esta última espécie é também a principal vectora da esquizotripanose na Argentina, Uruguai, Chile, Paraguai, Bolívia e Perú.

Na Argentina, Uruguai, Chile, Paraguai, Bolívia e Perú, o *T. infestans* é o transmissor mais importante e apresenta, nestes países, elevados índices de infecção natural pelo *S. cruzi* (33 a 65%, tabela 3). Em

TABELA-3
INDICES DE INFECÇÃO NATURAL DE ALGUMAS ESPECIES
DE TRIATOMINEOS PELO S. CRUZI
DADOS OBTIDOS EM DIVERSOS PAISES

Nº PAISES	ESPECIES	TOTAL EXAMINADO	PERCENTAGEM DE INFECÇÃO	AUTORES
BRASIL MINAS GERAIS	T. INFESTANS	8422	27,6	PELLEGRINO 1951
BRASIL MINAS GERAIS	P. MEGISTUS	2308	27,1	PELLEGRINO 1951
BRASIL MINAS GERAIS	T. SORDIDA	761	7,5	PELLEGRINO 1951
BRASIL MINAS GERAIS	T. INFESTANS	1320	27,7	MARTINS & COLS 1951
BRASIL MINAS GERAIS	P. MEGISTUS	8238	35,7	MARTINS & COLS 1951
BRASIL MINAS GERAIS	T. SORDIDA	1320	5,4	MARTINS & COLS 1951
BRASIL SÃO PAULO	T. INFESTANS	4772	26,9	FREITAS 1950
BRASIL BAHIA	P. MEGISTUS	442	22,8	PONDÉ & COLS 1948
BRASIL RIO GRANDE DO SUL	T. INFESTANS	5994	56,7	PINOTTI 1952
BRASIL CEARÁ	P. MEGISTUS	1028	16,2	ALBUQUERQUE & COLS 1942
BRASIL PARANÁ	T. INFESTANS	189	33,3	ALMEIDA 1948
BRASIL PERNAMBUCO	P. MEGISTUS	44	22,7	LUCENA 1941
ARGENTINA	T. INFESTANS	1722	33,0	MAZZA MUSINGER 1944
URUGUAI	T. INFESTANS	729	39,0	TALICE & COLS 1940
CHILE	T. INFESTANS	20952	44,1	NEGHME & COLS 1949
CHILE	T. SPINOLAI	90	22,2	WHITING 1946
PERÚ	T. INFESTANS	607	36,2	HERRER & AYULO 1944
BOLIVIA	T. INFESTANS	17402	64,9	TORRICO 1950
EQUADOR	T. DIMIDIATA	748	25,9	ALVAREZ 1947
VENEZUELA	R. PROLIXUS	8275	45,0	PIFANO & COLS 1950
GUATEMALA	T. DIMIDIATA	157	35,0	REICHENOW 1934
MEXICO	T. PHYLLOSOMA	481	36,4	MAZZOTTI 1940
MEXICO	T. DIMIDIATA	223	7,6	MAZZOTTI 1940
MEXICO	T. PALLIDIPENNIS	305	15,4	MAZZOTTI 1940
ESTADOS UNIDOS	T. HEIDEMANNI	150	65,0	PACKCHANIAN 1940
ESTADOS UNIDOS	T. GERSTAKERI	100	92,0	PACKCHANIAN 1939
ESTADOS UNIDOS	T. PROTRACTA	957	20,5	WOOD 1941
ESTADOS UNIDOS	T. LONGIPES	152	16,1	WOOD 1941

vários paises da região norte da América do Sul (Venezuela, Guiana Francêsa, Colômbia), o *Rhodnius prolixus* é o principal responsável pela difusão da doença. O *T. dimidiata* figura entre os mais importantes transmissores da esquizotripanose no Equador, em paises da América Central e no México.

O *Triatoma rubrofasciata,* única espécie cosmopolita, é transmissor habitual de um hemoflagelado do rato, o *Trypanosoma conorrhini.* Êste triatomíneo já foi encontrado naturalmente infectado pelo *S. cruzi.*

O *Panstrongylus geniculatus* é uma espécie silvestre, vivendo em tocas de tatús, onde transmite a esquizotripanose entre êstes edentados. Ocasionalmente pode frequentar o domicílio humano.

O *Cavernicola pilosa* e o *Parabelminus carioca* representam, respectivamente, os vectores da esquizotripanose entre os quirópteros e os didelfídeos.

O gênero *Psammolestes* inclui espécies encontradas em ninhos de pássaros.

Hábitos

Em relação ao grau de adaptação ao domicílio humano, as espécies de triatomíneos podem ser classificadas em três grupos:

a) espécies domiciliares
b) espécies semi-domiciliares
c) espécies silvestres

Acredita-se que os triatomíneos, primitivamente de hábitos silvestres, foram se adaptando pouco-a-pouco ao domicílio humano. Atualmente, algumas espécies como o *T. infestans,* são quase que esclusivamente domiciliares. Outras, como o *T. sordida,* se encontram em via de adaptação, enquanto a grande maioria das espécies apresenta ainda hábitos silvestres.

Carlos Chagas, ao descobrir a esquizotripanose, no interior de Minas Gerais, assim nos informou sôbre os hábitos do *Panstrongylus megistus,* transmissor abundantemente encontrado nas casas pobres de Lassance:

"Habita os domicilios humanos, atacando o homem á noite, depois de apagadas as luzes, occultando-se, durante o dia, nas frestas das paredes, nas coberturas das casas, em todos os esconsderijos, emfim, onde possa encontrar guarida. De regra, é o hematofago visto em maior abundancia nas habitações pobres, nas choupanas de paredes não rebocadas e cobertas de capim. Alí a reproducção delles é consideravel; são encontrados em numero imenso nas frestas das paredes e constituem condição anti-vital das mais notaveis, pela dificuldade trazida ao repouzo do homem. Muita vez verificàmos o ataque do homem pelo hematofago: Poucos minutos apoz a extinção da luz nos apozentos saem elles dos esconderijos, em grande numero, e vêm picar os individuos, de preferencia no rosto. Acendendo-se o lume os hematofagos fogem rapidamente, sendo mesmo dificil, deste modo, a captura delles.

O hematofago só permanece nas habitações emquanto aí rezide o homem; das cabanas abandonadas bem depressa elle dezaparece, certo pelo fato da auzencia de alimentação".

A atividade hematófaga dos triatomíneos é mais acentuada na época quente do ano. Podem permanever vivos durante vários mêses sem se alimentar.

Ciclo evolutivo

Os triatomíneos são insetos paurometabólicos, isto é, na sua evolução sofrem apenas transformações e não metamorfoses verdadeiras. Para atingir o estado adulto, os triatomíneos passam por 5 mudas ou ecdises. O tempo de evolução, de ovo a adulto, é variável para cada espécie. Segundo NEIVA, é de 270 dias para o *P. megistus* e de 240 dias para o *T. infestans*.

INFECÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS

Os triatomíneos se infectam sugando o sangue do homem ou de animais com esquizotripanose. Ao que parece, uma vez estabelecida a infecção, ela persiste durante tôda a vida do inseto. Não ha passagem da infecção da fêmea para o ovo.

Na mesma região verificam-se maiores índices de infecção natural nos insetos adultos, uma vez que êstes, num espaço de tempo maior, tiveram mais oportunidades de a adquirirem.

MECANISMO DE TRANSMISSÃO DA DOENÇA

Dá-se a transmissão usual da doença de CHAGAS pelo processo contaminativo. No momento em que o triatomíneo suga o indivíduo, ou logo depois, emite dejeções nas quais estão contidos os tripanosomas metacíclicos (formas infectantes). Êstes estabelecem a infecção penetrando ativamente através de mucosas íntegras ou de solução de continuidade do revestimento cutâneo, inclusive o da própria picada.

Já se verificou a transmissão da esquizotripanose pelo leite materno, e CHAGAS acredita na possibilidade da transmissão congênita através da placenta, fato aliás observado em animais. Além desses mecanismos, o homem pode infectar-se acidentalmente, ao lidar com triatomíneos ou animais com esquizotripanose. Ultimamente, tem sido focalizada, com destaque, a possibilidade da transmissão da doença de Chagas pela transfusão de sangue. Além de numerosos casos de doadores com esquizotripanose, a literatura registra o fato de duas crianças, fora de zona endêmica, terem contraído a infecção em consequência da transfusão.

VERTEBRADOS SENSÍVEIS E RESERVATÓRIOS NATURAIS

Grande número de animais, silvestres e domésticos, incluindo canídeos, felídeos, cavídeos, murídeos, quirópteros, mustelídeos, sciurídeos, edentados, marsupiais, suídeos e primatas têm sido encontrados naturalmente infectados pelo *S. cruzi*. A lista das espécies é muito extensa

e a ela somam-se os animais que podem contrair a infecção quando experimentalmente inoculados. De um modo geral, tanto maior é a susceptibilidade à infecção quanto mais jovem for o animal. Entre os animais particularmente sensíveis, destacam-se o cão, o rhesus, a cobaia, o gato e o camundongo branco.

Sob o ponto de vista da endemia humana, somente o cão e o gato desempenham papel importante como reservatórios do *S. cruzi.*

OUTROS FATORES EPIDEMIOLÓGICOS

O tipo de *habitação,* ligado às condições *higiênico-sociais* de seus moradores, constitui fator epidemiológico de grande importância. Os transmissores da doença de Chagas se desenvolvem abundantemente nas habitações pobres, como as cafuas de pau-a-pique, os mocambos, construidos geralmente de barro batido e cobertos de sapê, ficando assim, "mais apropriados para a moradia de *barbeiros* que para residencias de homens". A grande resistência dos triatomíneos ao jejum, permite que sejam transportados vivos, com os pertences de indivíduos que se deslocam de um lugar para outro, o que favorece a formação de novos focos de endemia.

A doença de Chagas pode ocorrer em indivíduos de qualquer *idade.* A maior frequência com que são encontrados casos agudos em crianças decorre, não de u'a maior susceptibilidade, mas da grande probabilidade que os moradores de casas infestadas por triatomíneos têm, já nos primeiros anos de vida, de se infectar, sugeitos que estão aos ataques diários por parte dos hematófagos transmissores. Não ha predileção para o *sexo* nem pela *côr.*

O número de casos agudos de doença de Chagas, verificado nas zonas endêmicas, aumenta nos meses quentes do ano. Esta *variação sazonal* decorre da maior proliferação e da maior atividade dos hematófagos transmissores nesta época do ano.

Outros fatores predisponentes, como por exemplo, o estado de desnutrição em que geralmente se encontram os habitantes das zonas de endemia chagásica, não foram ainda devidamente investigados.

PATOGENIA

Através das mucosas íntegras ou de solução de continuidade do revestimento cutâneo contamina-se o indivíduo pela penetração ativa dos tripanosomas metacíclicos eliminados com as dejeções dos triatomíneos. Quando aparente, a porta de entrada da infecção evidencia-se, clìnicamente, pelo complexo oftalmoganglionar, quando se dá a penetração do parasito pela mucosa ocular, ou pelo chagoma de inoculação, quando o flagelado, encontrando solução de continuidade, penetra no organismo através do revestimento cutâneo.

Verifica-se a multiplicação do parasito nos tecidos da zona de inoculação, preferentemente no interior de células do sistema retículo-histiocitrário. Durante o primeiro período de multiplicação não ocorrem fenômenos de infiltração celular. Êstes só aparecem 4 ou 5 dias depois

da contaminação, e decorrem das primeiras rupturas dos elementos celulares parasitados. Os fenômenos inflamatórios iniciais são produzidos pela afluência de numerosas células migratórias, leucócitos polimorfonucleares, monócitos, linfócitos e pela proliferação do tecido histiocitário regional.

Por ocasião da ruptura das células parasitadas, os tripanosomas ganham a circulação sanguínea e linfática para alcançar os mais variados territórios orgânicos onde se localizam e constituem novos focos de multiplicação. Desenvolvem-se estes principalmente no coração, no sistema nervoso central, nos órgãos hemolinfopoiéticos e na musculatura estriada.

O número de tripanosomas circulantes aumenta rapidamente, logo no início da infecção, às expensas dos novos focos de multiplicação que, contínua e ciclicamente, se formam e se disseminam. O grau de parasitemia pode aumentar progressivamente até atingir niveis muito elevados. Contudo, esta evolução não é frequente: depois de um aumento inicial, a parasitemia decresce paulatinamente até que os tripanosomas circulantes já não possam ser evidenciados, no sangue, por processos diretos. O primeiro período — de franca parasitemia — caracteriza a fase aguda da infecção. Na fase crônica, como acentuou Chagas, o *S. cruzi* passa a ser mais um parasito dos tecidos que do próprio sangue. Estabelece-se então um equilíbrio dinâmico entre o parasito e o hospedeiro, pondo êste em atividade suas defesas imunitárias, enquanto o parasito, localizado na intimidade dos tecidos, mantem presente a continuidade da infecção.

Desde os trabalhos iniciais de Chagas e Gaspar Vianna, invocaram-se pelo menos dois mecanismos para explicar a ação patogênica do *S. cruzi* no organismo:

a) uma ação *mecânica,* pela qual o parasito lesa ou destroi as células parasitadas. Esta atividade patogênica mostra-se mais evidente nos tecidos de pequena ou nula capacidade de regeneração e naqueles cuja capacidade fisiológica vê-se consideravelmente diminuida devido ao grande número de células atingidas;

b) uma ação de natureza *tóxica*. A substância tóxica seria elaborada pelo *S. cruzi* ou libertada após a sua destruição.

Recentemente, Muniz & Azevedo, baseados em achados experimentais, admitem um *mecanismo alérgico* na patogenia da doença de Chagas, mecanismo êste já entrevisto por M. Torres.

CLÍNICA

Na evolução da infecção esquizotripanósica podem-se distinguir duas fases: aguda e crônica.

A *fase aguda* é caracterizada pelos sinais de porta de entrada da infecção, pelo polimorfismo das manifestações clínicas decorrentes do comprometimento dos mais variados territórios orgânicos e pela parasitemia evidenciável por processos diretos. A hemossedimentação é elevada e a reação de precipitina, positiva. Distinguem-se, na fase

aguda, uma *forma benigna* e outra *grave*, com manifestações de intensa cardiopatia aguda ou de meningoencefalite.

A *fase crônica* é caracterizada, ou por um estado de cura aparente da infecção (*forma indeterminada*), ou pelo aparecimento, mais ou menos tardio, de manifestações para o lado do aparelho cárdio-vascular (*forma cardíaca*). O *S. cruzi* passa a ser mais um parasito dos tecidos que do próprio sangue. A reação de fixação do complemento é positiva em mais de 95% dos casos. A *forma nervosa* da doença, bem como outras possíveis manifestações crônicas, não foram ainda devidamente investigadas.

Entre as fases aguda e crônica, existe um período de transição, no qual se vão apagando, gradualmente, as manifestações da fase aguda. Neste período é frequente o encontro de pequena elevação térmica irregular e de infartamento ganglionar. A reação de precipitina conserva-se positiva na maioria dos casos, sendo a hemossedimentação, geralmente elevada. Os tripanosomas circulantes deixam de ser evidenciados por processos diretos.

FASE AGUDA

A esquizotripanose, em sua fase aguda, é, por excelência, uma doença da infância. Como salientou Carlos Chagas, as crianças, nas zonas endêmicas, "desde o nascer ficam sujeitas á molestia e dela dificilmente podem escapar, dada a abundancia de hematofagos transmissores e o alto coeficiente de infecção neles verificado".

Na casuística da Misión de Estudios de Patologia Regional Argentina (M.E.P.R.A.), baseada em 1232 casos agudos, diagnosticados em diversos pontos do país, foi a seguinte a distribuição pelos grupos etários:

Até 6 meses	85	casos	(6,89%)
De 6 meses a 1 ano	85	"	(6,89%)
De 1 a 2 anos	133	"	(10,79%)
De 2 a 5 anos	249	"	(20,21%)
De 5 a 10 anos	265	"	(21,50%)
De 10 a 20 anos	248	"	(20,12%)
De 20 a 40 anos	131	"	(10,63%)
De 40 a 60 anos	31	"	(2,51%)
Mais de 60 anos	5	"	(0,40%)

Nesta casuística portanto, 66 % dos chagásicos eram crianças até 10 anos de idade. Em 100 casos agudos observados em Bambuí (Minas Gerais), 77 eram, igualmente, crianças até 10 anos.

O *período de incubação*, de duração variável, gira em torno de uma semana.

O *início* da moléstia dá-se subitamente, apresentando então o paciente, febre, calafrios, cefaléia, malestar, dôres musculares, inapetência.

Na maioria dos casos observam-se os sinais de porta de entrada da infecção (complexo oftalmo-ganglionar e chagomas de inoculação). Vezes outras o início da infecção decorre com manifestações muito discretas, podendo esta passar despercebida.

Fig. 5 — **Edema bipalpebral unilateral (Sinal de Romaña).** Constitui sinal freqüente de porta de entrada da infecção.

O *complexo oftalmo-ganglionar* (sinal do olho ou sinal de Romaña, fig. 5), representa um sinal de grande valôr diagnóstico e tem proporcionado o reconhecimento de elevado número de casos de infecção aguda, nas zonas de endemia chagásica. A sua frequência foi de 48 e 61,6%, respectivamente, nas estatísticas de casos agudos de esquizotripanose, elaboradas em Bambuí, pelo Instituto Oswaldo Cruz, e na Argentina, pela M.E.P.R.A.

Assim caracteriza-se o complexo oftalmo-ganglionar:

1.º — evolução inicial rápida, com inchação das pálpebras e da conjuntiva de um dos olhos;

2.º — edema elástico e indolor, tomando as pálpebras uma coloração réseo-violácea bastante característica;

3.º — hiperemia e edema da conjuntiva (quemose);

4.º — propagação do edema às regiões vizinhas;

5.º — escassa secreção conjuntival;

6.º — reação ganglionar satélite, do mesmo lado da inflamação ocular, localizada nos gânglios pré-auriculares, parotidianos e sub-mandibulares;

7.º — freqüente encontro de um gânglio de maior tamanho que os demais;

8.º — desaparecimento lento da inflamação ocular no decurso da fase aguda da infecção.

Mazza & Benitez descreveram a *dacrioadenite* (fig. 6) como constante nos pacientes com o complexo oftalmo-ganglionar. A observação da glândula lacrimal accessória só é possível após a diminuição do edema palpebral. Fazendo-se então a eversão da pálpebra superior, e indicando-se ao paciente que dirija a vista para baixo e para dentro, vê-se a glândula lacrimal accessória, aumentada de volume e com uma coloração que vai do róseo escuro ao vermelho vinhoso.

Fig. 6 — **Dacrioadenite** (Mazza & Benitez), sinal constante nos pacientes com o complexo oftalmo-ganglionar. Para observar a glândula lacrimal accessória faz-se a eversão da pálpebra superior e indica-se ao paciente que dirija a vista para baixo e para dentro (Seg. Talice & cols., 1940).

A *conjuntivite* não constitui manifestação frequente. Quando presente, atinge especialmente os fundos de saco conjuntivais e assume

a forma de uma conjuntivite congestiva e pouco exsudativa. A exsudação é serosa ou purulenta quando ha complicações. A regressão da conjuntivite processa-se em pouco tempo.

Fig. 7 — Chagoma de inoculação no braço. O chagoma constitui sinal de porta de entrada em cerca de 25% dos casos de infecção aguda. Pode aparecer em qualquer região do corpo, especialmente nas partes descobertas. Seg. Mazza & Miyara, 1940, publ. 46 da M.E.P.R.A.)

Outros sinais oculares como a *dacriocistite,* a *ceratite* e a *exoftalmia* foram descritos em pacientes com o complexo oftalmo-ganglionar.

Os *chagomas de inoculação* (fig. 7) constituem sinal de porta de entrada em cerca de 25% dos casos de infecção aguda. Podem aparecer em qualquer região do corpo, especialmente nas partes descobertas. Apresentam-se sob a forma de zonas de endurecimento cutâneo, geralmente avermelhadas e com temperatura local elevada, surgindo como se brotassem de dentro da pele. São pouco dolorosos, exceto quando se localizam na parede abdominal ou nas coxas, onde podem assumir grandes proporções. Acompanham-se de uma adenopatia tributária múltipla, sobressaindo sempre um dos gânglios por seu maior volume. Os gânglios apresentam-se móveis e indolores à apalpação. A área central da lesão pode assumir um aspecto arroxeado, hemorrágico, com margens avermelhadas. Um edema duro, elástico, não deixando "godet", circunda geralmente a lesão central. A superfície externa do chagoma apresenta, frequentemente, uma descamação fina, furfurácea, em fase

mais avançada. O chagoma de inoculação involui espontâneamente, desaparecendo depois de 2 a 3 meses. No local da lesão permanece uma zona hiperpigmentada característica. Algumas vezes o chagoma de inoculação vem a ulcerar-se, apresentando-se então coberto por crostas melicéricas. Retirando-se as crostas, fica a descoberto uma superfície de granulação, que sangra levemente. A ulceração regride espontâneamente, deixando uma cicatriz hiperpigmentada.

Fig. 8 — Edema generalizado na fase aguda, sem porta de entrada aparente da infecção. Geralmente se inicia no rosto, já quando aquele decorrente do complexo oftalmo-ganglionar está em regressão. Do rosto extende-se a outras regiões do corpo, localizando-se, especialmente, na parte inferior do abdomen e nos membros inferiores, mostrando-se mais acentuado no dorso dos pés.

Além do edema inflamatório, verificado nos locais de porta de entrada da infecção, observa-se, com relativa frequência, o aparecimento de um *edema generalizado* (fig. 8), que habitualmente se inicia no rosto, quando aquêle decorrente do complexo oftalmo-ganglionar está em regressão. Do rosto extende-se a outras regiões do corpo, localizando-se, especialmente, na parte inferior do abdomen e nos membros

inferiores, mostrando-se mais acentuado no dorso dos pés. Não raramente, assume o aspecto de verdadeiro anasarca. A consistência do edema é elástica, não deixando impressão de "godet". A pele apresenta-se descorada, às vezes cianótica, e com temperatura diminuida. A duração do edema generalizado é muito variável, regredindo, às mais das vezes, com os outros sintomas da fase aguda. O edema generalizado pode existir isolado, sem sinais aparentes de porta de entrada da infecção.

Vários fatores devem concorrer na formação deste edema, tendo sido referidos os seguintes:

1.º — diminuição da pressão oncótica do sangue por hipoproteinemia. Com efeito, quando se efetuam dosagens das proteinas no plasma encontra-se: a) baixa da fração serina; b) diminuição do fibrinógeno; c) aumento frequente das globulinas; d) as proteinas totais podem estar diminuidas, à custa da redução da fração serina, ou normais. Neste caso o aumento das globulinas compensa a redução das albuminas. Esta hipoproteinemia parece estar ligada, seja a um comprometimento hepático, determinando uma alteração no processo de síntese das proteinas, seja a uma deficiente ingestão ou absorção de prótides, fato explicável em vista dos distúrbios digestivos comuns na fase aguda da doença. A carência alimentar crônica, sobretudo de proteinas, muito comum em certas zonas endêmicas, deve constituir um fator predisponente de certa importância na formação do edema generalizado;

2.º — aumento da pressão hidrostática do sangue nos casos com insuficiência cardíaca congestiva. Nesta hipótese, sendo de origem circulatória, o edema terá as características próprias deste.

A *elevação térmica* constitui um achado constante na fase aguda da doença. De regra, as oscilações da temperatura mantêm-se em níveis moderados (37,5 a 39º C.), podendo alcançar, contudo, graus mais elevados (40º C.), especialmente em crianças de baixa idade. O grau de elevação térmica, aparentemente, não mantém relação com a gravidade da infecção. A febre pode assumir os mais variados aspectos, sendo mais frequente a curva térmica dos tipos remitente irregular e regular com exacerbações vespertinas. Se o registro da temperatura é feito cada tres horas, podem-se observar elevações febris duplas ou triplas no mesmo dia. A duração do período febril é muito variável. É frequente a persistência de uma febrícula, mesmo após o desaparecimento das outras manifestações da fase aguda (fig. 9). Contudo, a febre pode desaparecer, por completo, após o período de parasitemia franca.

A *adenopatia generalizada secundária* constitui um achado bastante frequente na fase aguda da infecção. Aparece já na primeira semana, alcançando, logo em seguida, o seu máximo de extensão e intensidade. São especialmente palpáveis os gânglios cervicais, supra-claviculares, axilares, epitrocleanos e inguinais. O tamanho dos gânglios é extremamente variável. Têm consistência dura, são móveis e indolores à apalpação. A adenopatia generalizada persiste por longo tempo, e, não raro, constitui um sinal isolado em crianças com infecção crônica.

O *fígado* apresenta-se geralmente aumentado de volume no decurso da fase aguda da esquizotripanose. Às mais das vezes a hepatomegalia é ligeira. Nos casos de insuficiência cardíaca congestiva o fígado pode apresentar-se muito aumentado de volume, sendo então bastante doloroso à apalpação. Também frequente é o aparecimento de uma *esplenomegalia* de grau moderado, apresentando-se o baço de consistência dura e indolor.

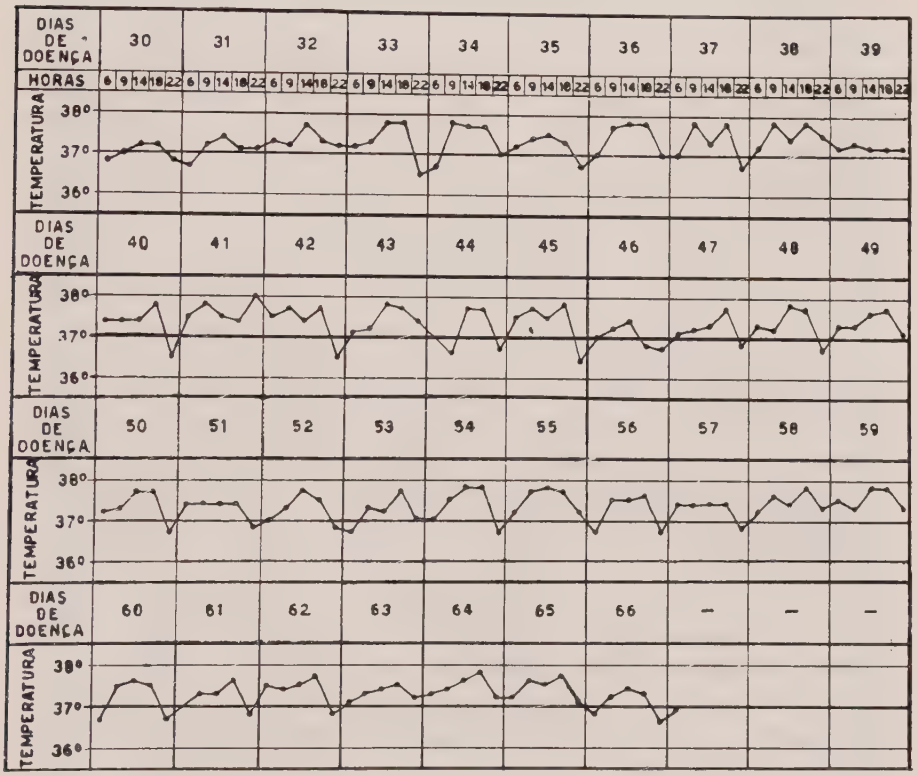


Fig. 9 — **Persistência da febre na 10.ª semana de doença.** A partir da 5.ª semana o exame de sangue a fresco foi sempre negativo. Caso de cardiopatia aguda com derrame pericárdico. (Seg. Laranja & cols., 1948, mod.).

Nas observações feitas por Laranja e colaboradores, em crianças procedentes do foco de Bambuí, verificaram-se *alterações cardíacas* na maioria dos casos agudos. Além disso, nos casos mortais autopsiados, foi frequente o comprometimento miocárdico, mesmo naqueles que não apresentavam, em vida, manifestações clínicas cardio-vasculares particularmente evidentes. A taquicardia é variável, de regra moderada, podendo mesmo faltar, inclusive nos casos com sinais indiscutíveis de cardiopatia. Às vezes, o aumento da frequência cardíaca torna-se particularmente evidente já na fase de regressão dos sintomas agudos

da infecção. O choque da ponta mostra-se fraco e difuso. A primeira bulha é abafada, podendo ser substituida por um sôpro sistólico funcional, mais audível no foco mitral. É também freqüente o aparecimento do rítmo de galope diastólico. Exames radiológicos seriados revelam, na maioria dos casos agudos, aumento da área cardíaca. Êste aumento, moderado ou acentuado, pode ser global ou predominante do ventrículo

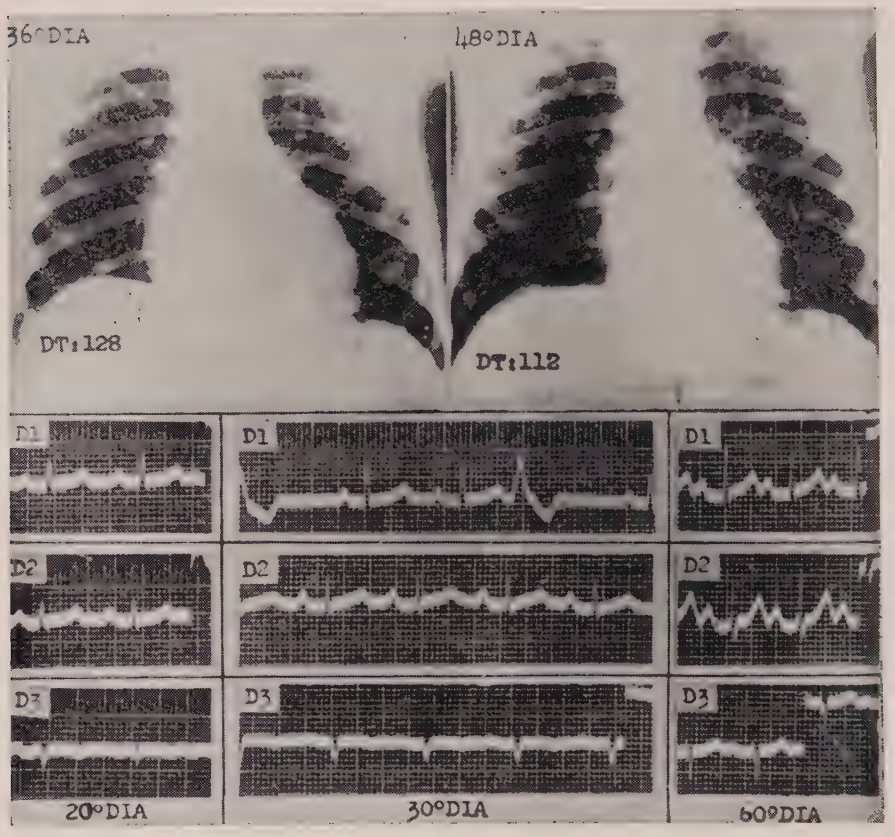


Fig. 10 — Aumento da área cardíaca e alterações eletrocardiográficas na fase aguda. O diametro transverso atingiu o máximo de 128 mm na 4.ª semana da doença (+ 24% pela tabela de Ungerleider & Clark) e voltou ao normal na 7.ª semana. O eletrocardiograma evidenciou aumento de PR a partir da 3.ª semana, o qual persistiu até o 5.º mês de doença. Na 5.ª semana apareceram extrasístoles ventriculares unifocais. (Seg. Laranja & cols., 1948).

esquerdo. A pressão arterial, de regra, conserva-se dentro de limites normais. Os casos graves, com insuficiência circulatória, acompanham-se de acentuada hipotensão arterial. Uma vez instalada a insuficiência cardíaca, a criança apresenta dispnéia de esforço, de decúbito, ortopnéia ou crises paroxísticas noturnas. Pode haver congestão visceral passiva do fígado e pulmões, nos casos graves. As alterações eletrocardiográficas mais comuns na fase aguda são o bloqueio A-V do 1.º grau (fig. 10) e

as alterações primárias da onda T (baixa voltagem, bifasismo ou inversão). Nos casos particularmente graves podem aparecer extrasístoles ventriculares, bloqueio A-V do 2.º grau, bloqueio de ramo direito e desnivelamentos discordantes de S-T com alterações da onda T (curvas de injúria, fig. 11). As manifestações cardíacas verificadas na fase aguda da doença de Chagas são reversíveis.

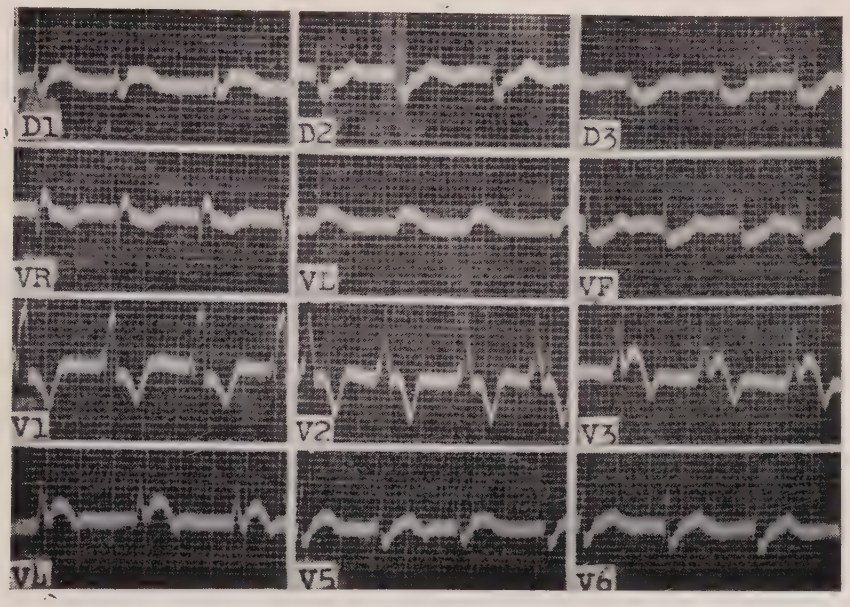


Fig. 11 — **Curva de injúria em um caso de cardiopatia aguda esquizotripanósica.** Supra-desnivelamento de ST em D1, VL, V3 e V4; infra-desnivelamento em D3 e VF. Curva de bloqueio de ramo direito. À autopsia encontrou-se miocardite aguda específica de extraordinária intensidade; artérias coronárias anatomicamente íntegras. (Seg Laranja & cols., 1948).

As *manifestações nervosas,* na fase aguda da infecção esquizotripanósica, revestem-se de prognóstico particularmente grave, sendo a meningoencefalite responsável por grande parte dos casos fatais nesta fase da doença. Ao lado de uma elevação acentuada e constante da temperatura, que pode alcançar 40º C. ou mais, notam-se vômitos fáceis, repetidos, sem estado nauseoso precursor e cefaléia de grande intensidade. Há inicialmente um período de excitação acentuada, sobretudo em crianças de baixa idade. A esta fase inicial pode suceder outra, caracterizada por um torpor profundo. No decurso da meningoencefalite são frequentes as convulsões clônicas, via de regra generalizadas, podendo ser espaçadas ou sub-intrantes. Os casos de evolução mais demorada podem apresentar contraturas (localizadas ou generalizadas), *nistagmus,* estrabismo, paralisias e paresias. Podem observar-se também a rigidês de nuca e os sinais de Kernig e Brudzinsky.

Manifestações digestivas, tais como inapetência, diarréias, vômitos, etc., constituem achados frequentes na fase aguda da doença de Chagas.

As *esquizotripânides,* manifestações cutâneas eruptivas, foram descritas por Mazza e colaboradores. Podem assumir as seguintes modalidades:

a) esquizotripânide morbiliforme,
b) esquizotripânide urticariforme,
c) esquizotripânide eritematosa multiforme,
d) esquizotripânide ulcerosa.

Na infecção esquizotripanósica aguda o *quadro hematológico* revela leucocitose com linfocitose, podendo esta alcançar percentagens elevadas (70 a 80%). A *hemossedimentação* mostra-se acelerada.

A *demonstração parasitológica* da infecção de regra é obtida fácilmente pelo exame de sangue a fresco ou em gota espêssa. Se a parasitemia é pouco intensa, o diagnóstico etiológico pode ser alcançado pela inoculação em animais sensíveis ou pelo xenodiagnóstico. A *reação de precipitina* é positiva. A *reação de fixação do complemento,* frequentemente, fornece, nesta fase, resultados negativos.

No *diagnóstico diferencial* da infecção esquizotripanósica aguda, cumpre considerar diversas afecções que com ela se confundem. As manifestações da porta de entrada ocular devem ser diferenciadas dos edemas inflamatórios de origem bacteriana (furúnculos da face, erisipela, dermites, ordéolos, edema de origem dentária, etc.); processos inflamatórios oculares diversos, como a blefaroconjuntivite; picada de insétos; edema angioneurótico. O edema generalizado da esquizotripanose aguda não deve ser confundido com os edemas da distrofia policarencial, da glomerulo-nefrite aguda e da nefrose. A adenopatia generalizada, comum na doença de Chagas, pode também observar-se na sífilis congênita, na doença de Hodgkin, etc. É necessario ainda afastar outras causas de cardiopatia, como a febre reumática e a glomerulonefrite aguda. O quadro meningoencefálico que aparece na fase aguda da esquizotripanose, comporta diagnóstico diferencial com as diversas encefalites que costumam ocorrer na infância (encefalite post-sarampo, post-coqueluche, post-parotidite epidêmica, post-gripal, etc.) e com as meningites (tuberculosa, sifilítica e purulentas).

O *prognóstico,* na fase aguda da doença de Chagas, depende de uma série de fatores, tais como, a idade, o estado geral de nutrição, o tipo e a intensidade das manifestações apresentadas pelo paciente. De regra, a doença assume aspecto mais grave em lactentes, especialmente naqueles de baixa idade. Em Bambuí, a *mortalidade* foi de 13,6% em 103 casos agudos. Tôdos os casos fatais, com exclusão de um, tinham menos de 5 anos de idade. Na casuística da M.E.P.R.A., em 1232 pacientes com esquizotripanose aguda, houve 33 casos fatais, sendo 28 lactentes. Dos 28 lactentes, 16 tinham menos de 6 meses de idade. Nas zonas endêmicas, com elevados índices de prevalência, a doença de Chagas deve constituir importante causa de mortalidade infantil.

O prognóstico é particularmente grave nas crianças com manifestações de meningoencefalite e de cardiopatia aguda descompensada.

FASE CRÔNICA

A maioria das crianças com esquizotripanose crônica se enquadra na *forma indeterminada* da moléstia, uma vez que as manifestações da fase crônica constituem fenômenos de aparecimento relativamente tardio no decurso da infecção.

A *forma cardíaca crônica* da esquizotripanose, descrita em seus aspectos fundamentais, desde as pesquisas iniciais de CHAGAS e GASPAR VIANNA, acha-se hoje perfeitamente caracterizada, como entidade cardiológica, após os trabalhos realizados, em bases clínicas, anatomo-patológicas e experimentais (fig. 12), por pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz. Assim resumem, LARANJA e colaboradores, o quadro clínico geral desta forma crônica:

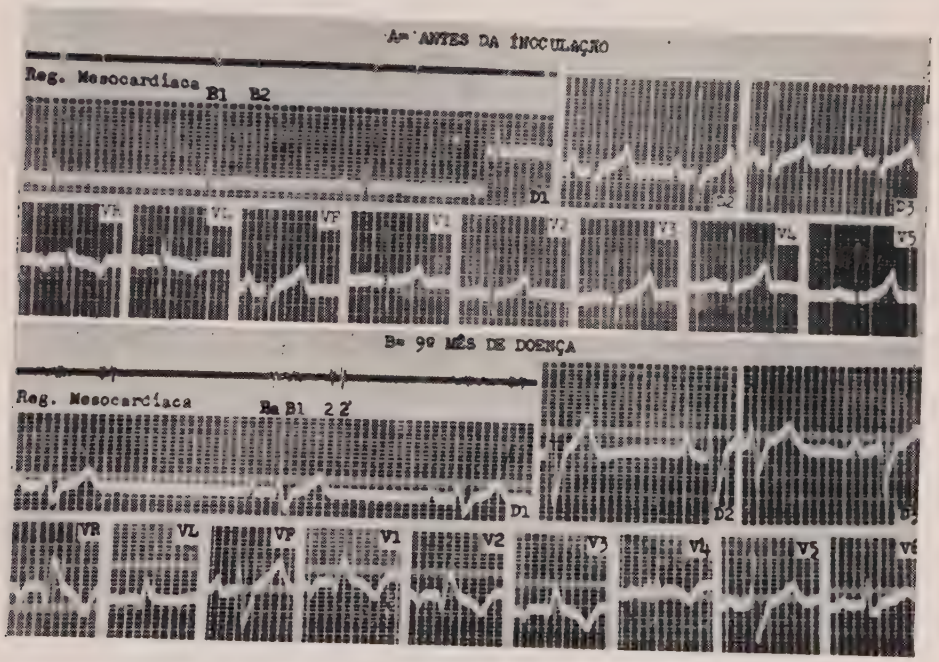


Fig. 12 — **Cardiopatia chagásca crônica em cão experimentalmente infectado.** O eletrocardiograma (B) feito no 9.º mês de doença evidenciou bloqueio de ramo direito. Notar no fonocardiograma o aparecimento de uma bulha auricular anormal (galope persistolico), a diminuição da intensidade da 1.ª bulha (B1) e o desdobramento largo da 2.ª bulha (2, 2'). (Seg. Laranja, Pellegrino & Dias).

"É usualmente manifestação tardía da infecção. Ela incide em cêrca de 50% dos pacientes com infecção crônica. Suas manifestações dependem da extensão das alterações miocárdicas.

"Palpitações, dispnéia, crises convulsivo-sincopais (bloqueio A-V intenso), precordialgias atípicas, dôr no hipocôndrio direito (congestão passiva do fígado) são os sintomas mais comuns. Alguns casos não

apresentam sintomas, o coração não se mostra aumentado e a única evidência da cardiopatia é fornecida pelo eletrocardiograma (cardiopatia assintomática).

"Irregularidades do rítmo cardíaco, desdobramento da 2.ª bulha no foco pulmonar e rítmo de galope são achados auscultatórios frequentes. O aumento do coração é de grau variável; ele atinge a tôdas as cavidades cardíacas. Doentes com insuficiência cardíaca em regra apresentam aumento pronunciado do coração. Predominam os sinais de dilatação cardíaca sôbre os de hipertrofia. Não se encontram sinais de lesão valvular ou de alterações estruturais dos grandes vasos. A pressão arterial é usualmente normal; em casos de insuficiência cardíaca pode a pressão sistólica estar reduzida e a diferencial ser muito pequena. Sinais de insuficiência valvular funcional são muito comuns em casos de insuficiência cardíaca. Usualmente do tipo direito ou do tipo bilateral, a insuficiência cardíaca raramente assume o tipo de

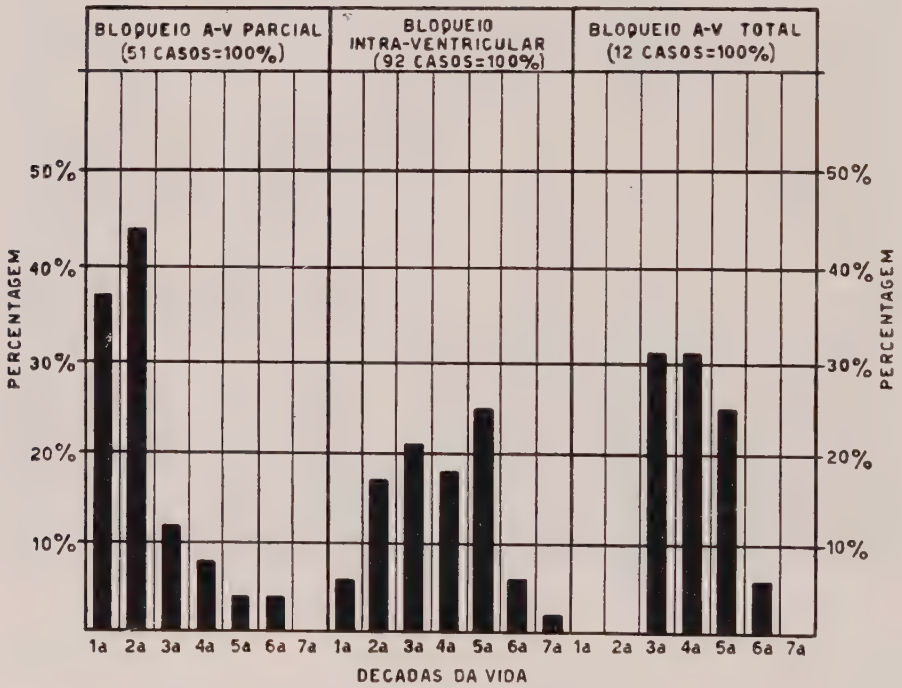


Fig. 13 — **Distúrbios da condução na cardiopatia chagásica crônica.** Distribuição de 155 casos de bloqueio segundo as décadas da vida. Os graus iniciais de bloqueio aurículo-ventricular predominam na 1.ª e 2.ª décadas da vida. (Seg. Laranja & cols., 1948. mod.).

insuficiência ventricular esquerda isolada. Na grande maioria dos casos, o eletrocardiograma evidencia distúrbios da condução ou da formação do estímulo, ou ambos. Extrasístoles ventriculares, bloqueio de ramo direito, bloqueios A-V de todos os graus e alterações atípicas do com-

plexo ventricular são os achados eletrocardiográficos mais importantes. O bloqueio de ramo direito é excepcionalmente comum neste tipo de cardiopatia e possui grande valôr diagnóstico em áreas endêmicas".

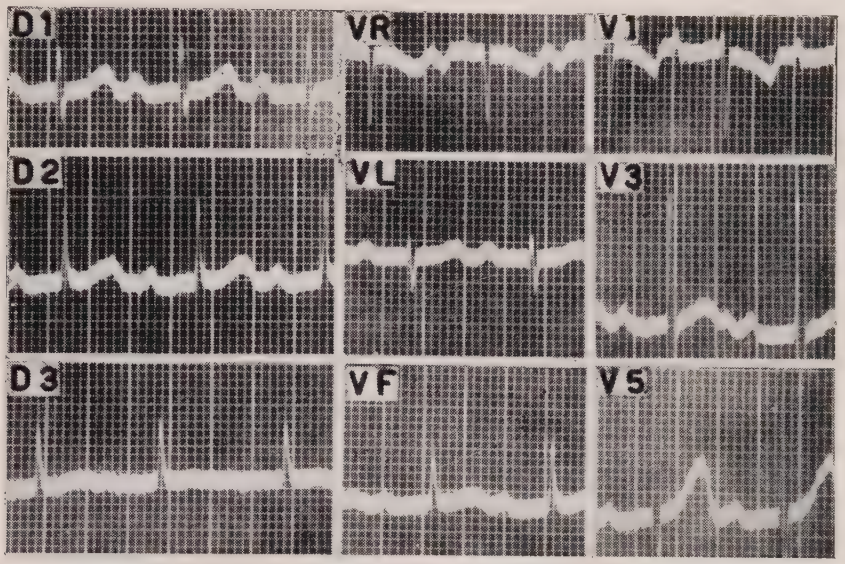


Fig. 14 — **Cardiopatia chagásica crônica assintomática.** Menino com bloqueio A-V do 1.º grau. O comprometimento miocárdico só foi evidenciado ao exame eletrocardiográfico.

Embora possam ser encontradas na infância, praticamente, tôdas as alterações eletrocardiográficas acima descritas, desde as extrasístoles ventriculares e o bloqueio aurículo-ventricular do 1.º grau, até o bloqueio A-V total, a cardiopatia chagásica assume, nesta fase da vida, as seguintes características decorrentes do tempo necessário para o estabelecimento e a evolução das lesões miocárdicas crônicas.

A *incidência* da cardiopatia chagásica em crianças com infecção crônica, em determinada zona endêmica, é inferior àquela verificada em adultos. Na infância, a cardiopatia crônica ocorre principalmente no fim da idade escolar e nos adolescentes.

A cardiopatia chagásica crônica, na criança, é geralmente *assintomática,* constituindo, as alterações do eletrocardiograma, quase sempre, a única evidência do comprometimento miocárdico.

As *alterações eletrocardiográficas* mais comuns em crianças com cardiopatia chagásica crônica são constituidas pelos graus iniciais de bloqueio aurículo-ventricular (fig. 13). O aumento do espaço PR é o achado mais frequente (fig. 14). Seguem-se as extrasístoles ventriculares, o bloqueio A-V do 2.º grau, o bloqueio de ramo direito (fig. 15). Outras alterações do eletrocardiograma, embora raras, podem ser encontradas, inclusive o bloqueio A-V total (fig. 16).

Na criança, os bloqueios da cardiopatia chagásica crônica, devem ser diferenciados daqueles de natureza congênita e daqueles que aparecem na cardiopatia reumática.

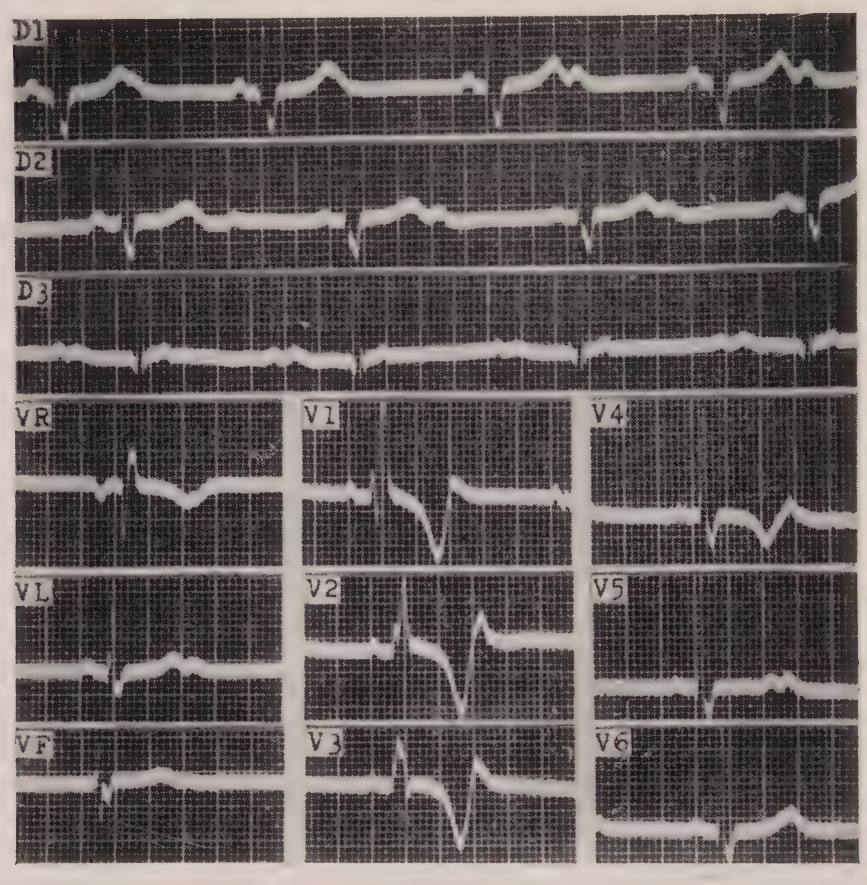


Fig. 15 — **Cardiopatia chagásica crônica em menina de 13 anos.** Bloqueio aurículo-ventricular do 2.º grau (2:1) e bloqueio de ramo direito.

A assim chamada *forma nervosa crônica* da esquizotripanose não tem sido convenientemente estudada. Na fase crônica da doença, descreveu CHAGAS perturbações da motilidade (paralisias espásticas, especialmente a paraplegia e a hemiplegia dupla, fig. 17), da linguagem (disartrias) e da inteligência (oligofrenia, desde a debilidade mental até a idiotia).

Recentemente, em vista da grande percentagem de provas laboratoriais positivas para a esquizotripanose (reação de fixação do complemento e xenodiagnóstico), e da frequência e tipo das alterações eletrocardiográficas apresentadas por pacientes portadores de megaesôfago

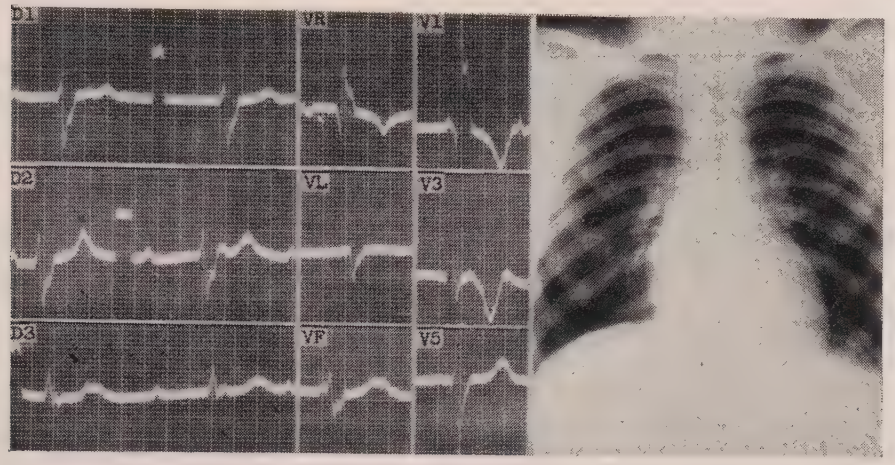


Fig. 16 — **Bloqueio A-V completo em menino de 10 anos com cardiopatia chagásica crônica.** Aumento moderado da área cardíaca. História de infecção aguda aos 14 meses de idade. Sintomatologia decorrente do comprometimento cardíaco desde os 8 anos. Reação de fixação do complemento com antígeno de **S. cruzi**, positiva. (Seg. Brasil & Pellegrino, 1951).

e megacolon, prccedentes de zonas de endemia chagásica, um grupo de investigadores tem procurado relacionar esses *distúrbios esfincterianos* com a etiologia chagásica. Esse fato tem sido verificado também em crianças. Em inquérito realizado em 200 crianças internadas em hospitais de Belo Horizonte, dentre 14 casos com reação de fixação do complemento positiva para esquizotripanose, 5 apresentavam distúrbios esfincterianos (megacolon ou megaesôfago, fig. 18).

Fig. 17 — **Forma nervosa crônica da doença de Chagas** (?). Paralisia espática (hemiplegia dupla). (Seg. Chagas, 1918, Rev. Med. do Brasil).

ANATOMIA PATOLÓGICA

Na anatomia patológica da doença de Chagas, devem ser consideradas, separadamente, as lesões observadas na fase aguda da moléstia, que se desenvolvem em terreno virgem, e as lesões observadas na fase crônica da moléstia, que transcorrem em tecidos cuja sensibilidade e reatividade se encontram modificadas. De um modo geral, as primeiras são predominantemente exsudativas, enquanto nas lesões da fase crônica predominam os fenômenos proliferativos.

Na *fase aguda* da infecção, os processos anátomo-patológicos podem desenvolver-se nos mais variados territórios orgânicos, mas, principalmente, nos locais correspondentes à porta de entrada do parasito, no miocárdio e no sistema nervoso central. Êstes processos constituem o complexo oftalmo-ganglionar, os chagomas de inoculação, a miocardite aguda difusa e a meningo-encéfalo-mielite.

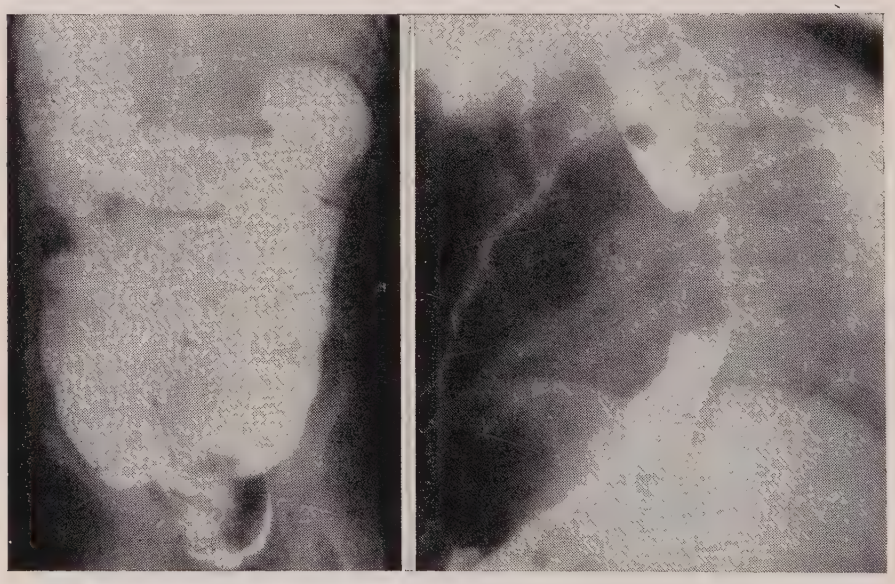


Fig. 18 — **Megacolon e megaesôfago** em menina de 13 anos esquizotripanose crônica.

Praticando biópsias da *conjuntiva,* em indivíduos com o complexo oftalmo-ganglionar, Mazza e colaboradores puderam determinar a natureza histopatológica das alterações que nela se desenvolvem. Estas foram assim agrupadas:

a) edema do córion da mucosa;

b) congestão capilar, linfangiectasia e hemorragias focais discretas;

c) infiltração celular na parte profunda do corion, extendendo-se para o epitélio, podendo invadir suas camadas basais. No abundante infiltrado celular, encontram-se células plasmáticas, histiócitos (formas fixas e monocitoides livres) e polimorfonucleares esparsos;

d) lesões epiteliais.

Na fase septicêmica da infecção chagásica, os tripanosomas podem localizar-se ao nível do revestimento cutâneo, produzindo então lesões características — os denominados *chagomas* — classificados por MAZZA em tres tipos:

a) *chagomas de inoculação,* cancros de inoculação tumoroide, caracterizados histologicamente por uma intensa dermo-epidermite erosiva, pseudo-ulcerosa, com citoesteatonecrose hipodérmica;

b) *chagomas metastáticos*. Caracterizam-se histologicamente por dermite, com citoesteatonecrose inflamatória do tecido celular subcutâneo;

c) *chagomas hematógenos,* caracterizados histologicamente por uma celulite, com citoesteatonecrose. A propagação das lesões inflamatórias ao derma é mínima. Os lipochagomas genianos constituem uma variedade dos chagomas hematógenos.

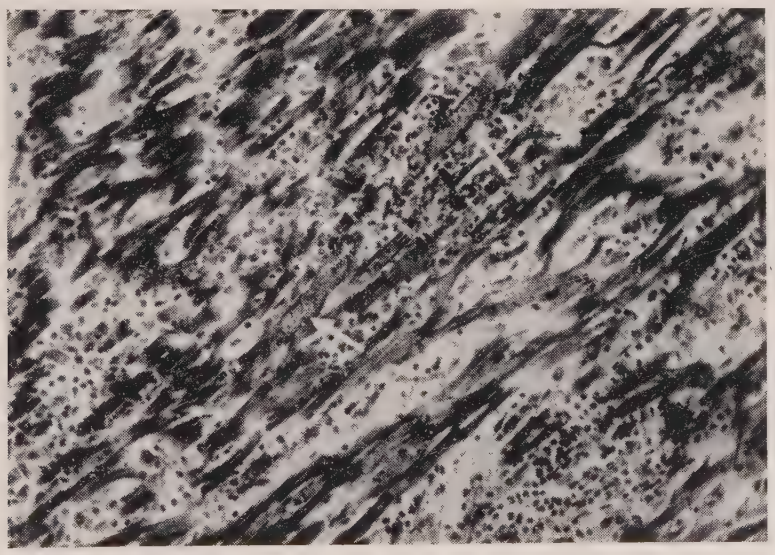


Fig. 19 — **Miocardite chagásica aguda em criança.** Intenso processo infiltrativo e degenerativo. Estão assinaladas duas fibras cardíacas com formas de multiplicação do *S. cruzi*. Hematoxilina & eosina. X 200.

O exame histopatológico sistematizado de *gânglios* obtidos em vários períodos da infecção esquizotripanósica, permitiu a MAZZA e colaboradores, distinguir tres tipos de lesões:

a) *adenite aguda chagásica,* necrótica, hemorrágica e parcialmente microabsedativa, correspondente ao foco de primo-infecção. Constitui a reação ganglionar mais precoce, e se estabelece no assim chamado gânglio "prefeito";

b) *adenopatia regional primitiva,* caracterizada histologicamente por uma adenite aguda atenuada, com grande hiperplasia histocitária intrafolicular, intrasinusal e nodular cortical;

c) *adenite secundária generalizada,* de caráter sistêmico e de natureza prevalentemente hiperplásica (histiocitose, em células "epitelioides", sinusais e foliculares).

"Nos casos agudos de molestia de Chagas, a *miocardite aguda difusa* oferece intensidade não encontrada em nenhuma outra doença humana" (M. Torres). A intensa e extensa infiltração celular (fig. 19) é constituida, principalmente, por células migradoras monocitoides, histiócitos, linfócitos e células plasmáticas. Como acentuou Gaspar Vianna, "os fenomenos inflamatorios são muitas vezes localizados ao redor de fibras parazitadas, mas não só, ha zonas infiltradas sem haver parazitos, como ha muitas celulas parazitadas sem reação pericelular". Além da infiltração intersticial, ocorrem alterações mais ou menos profundas das fibras miocárdicas (fig. 20), constituidas pelas degenerações ceroide, hialina, gordurosa e pela lesão de Magarinos Torres. Consiste esta na fusão dos segmentos escuros da estriação miofibrilar. Lesões inflamatórias do pericárdio e do endocárdio, especialmente as primeiras, constituem achado frequente.

As lesões observadas no *sistema nervoso central,* na fase aguda da esquizotripanose, foram assim resumidas por Magarinos Torres:

"A encefalo-mielite é constituida por focos de pequenas dimensões, não sistematizados, apresentando relações constantes de vizinhança com os capilares e pre-capilares intraencefálicos, distribuidos, indiferentemente, pelas substâncias branca e cinzenta do cérebro e medula espinhal, mais raramente do cerebelo.

"Os focos são formados por macrófagos, alguns, evidentemente, emigrados dos vasos, outros, provavelmente, derivados da microglia regional. A desintegração da substância nervosa, a formação de abundantes células grânulo-adiposas, a sua dispersão posterior e fibrose cicatricial consecutiva, são estádios sucessivos da evolução dos focos.

"O *S. cruzi,* com a morfologia de leismânia, é encontrado ao nivel e na vizinhança dos focos, mais comumente no interior de macrófagos, também da microglia (fig. 21) perivascular, e, mesmo, na própria célula nervosa.

"Lesões das células nervosas — tumefação e cromatólise perinuclear, e necrose — existem, não sendo proeminentes. Atingem, especialmente, as células de Purkinge, no cerebelo, as grandes piramidais da cortex, e, em menor escala, as multipolares da medula.

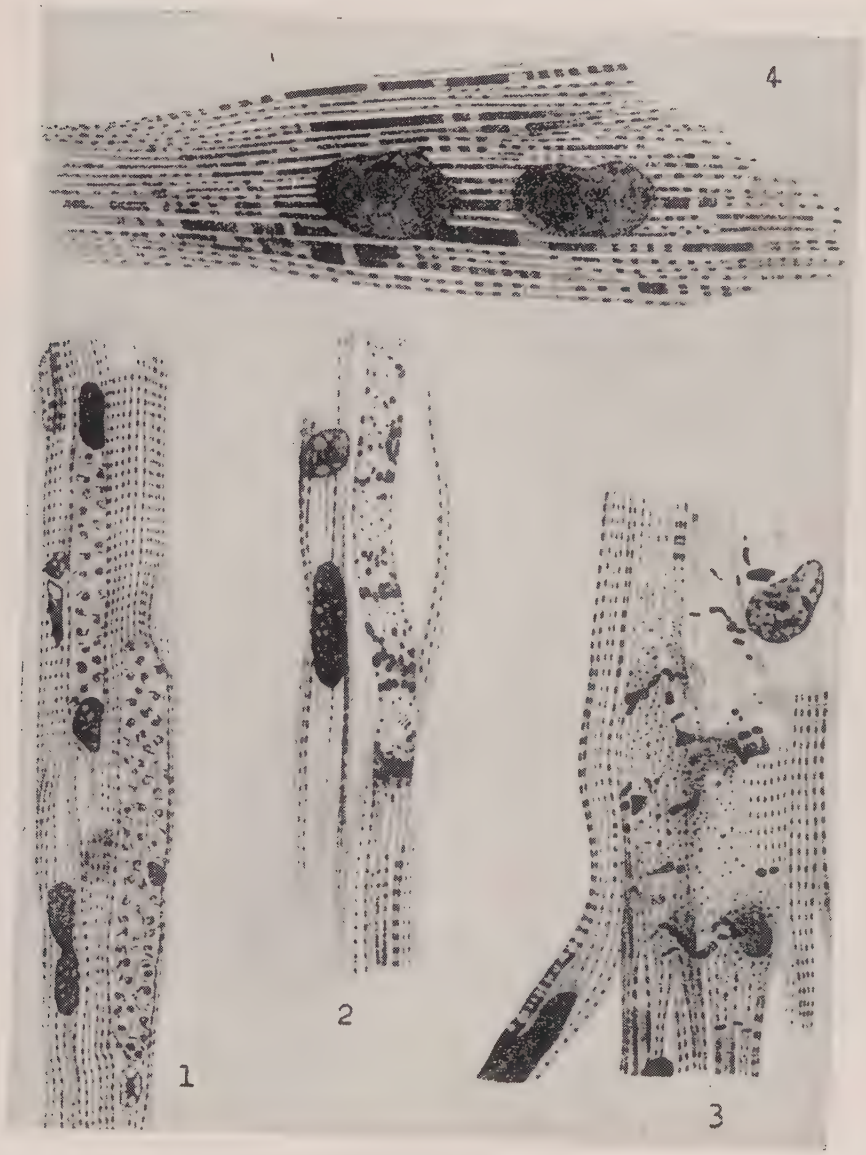


Fig. 20 — Alterações na fibra muscular cardíaca na fase aguda da doença de Chagas. 1 — corte longitudinal de fibras musculares cardíacas parasitadas que fica imediatamente acima e abaixo do aglomerado de parasitos. Constata-se no qual também se pode examinar a estrutura das fibras musculares em zona que, cessado o aglomerado, a fibra muscular readquire sua morfologia normal. 2 — corte longitudinal de fibra muscular cardíaca que sofreu a degeneração ceroide. 3 — corte longitudinal de fibras musculares cardíacas que sofreram a degeneração ceroide (disposição em forma de escada das massas homogêneas). 4 — corte longitudinal de fibra muscular cardíaca na qual são presentes alterações de sua porção fibrilar. (Seg. Magarinos Torres, 1917).

"As leptomeninges apresentam inflamação descontínua. O exudato inflamatório, pouco abundante, é constituido por macrófagos que predominam, por linfócitos e células plasmáticas".

No *fígado* observa-se acentuada infiltração gordurosa.

Nos indivíduos com cardiopatia crônica observa-se, ao exame histopatológico do coração, "uma *miocardite crônica* difusa, onde, ao lado de zonas com intensa proliferação do tecido conjuntivo intersticial, e afastamento consecutivo das fibras musculares, aparecem áreas de

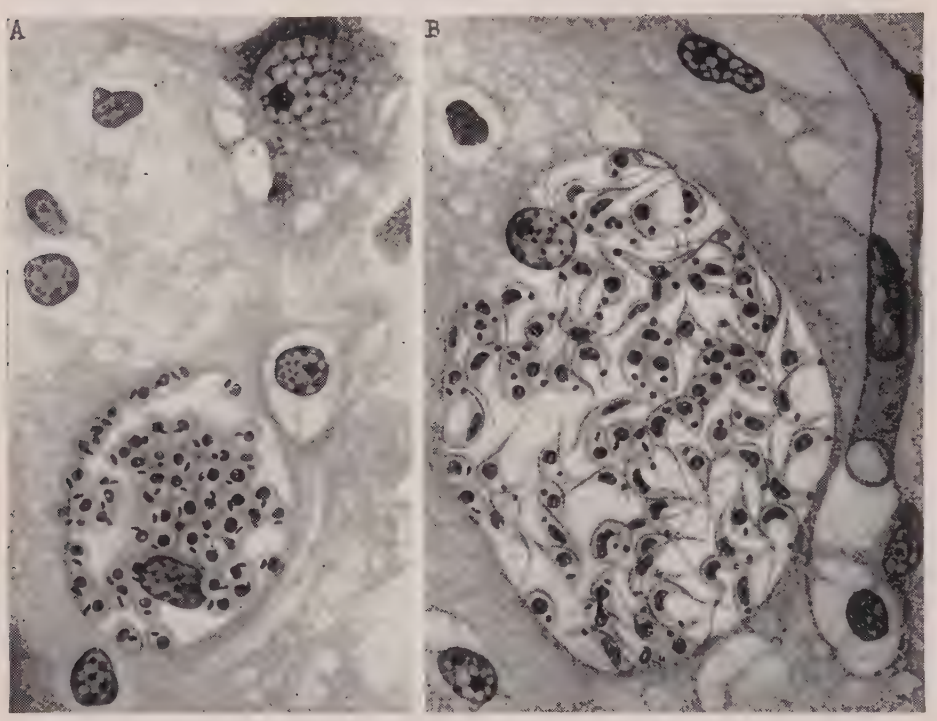


Fig. 21 — **Comprometimento do sistema nervoso central na fase aguda da doença de Chagas.** Cérebro: células da neuroglia com formas em leishmania (A) e flageladas (B) do *Schizotrypanum cruzi*. (Seg. Gaspar Vianna, 1911).

infiltração difusa por macrófagos, células plasmáticas, grandes e pequenos linfócitos" (M. Torres) (fig. 22). Há uma intensa hiperplasia das fibrilas de reticulina, demonstráveis pela impregnação argêntica. Não se observam lesões valvulares, podendo ocorrer, entretanto, uma endocardite parietal. O processo de miocardite extende-se ao pericárdio. De um modo geral é dificil o encontro de fibras cardíacas parasitadas, necessitando-se, para isso, quase sempre, do exame cuidadoso de um bom número de preparações.

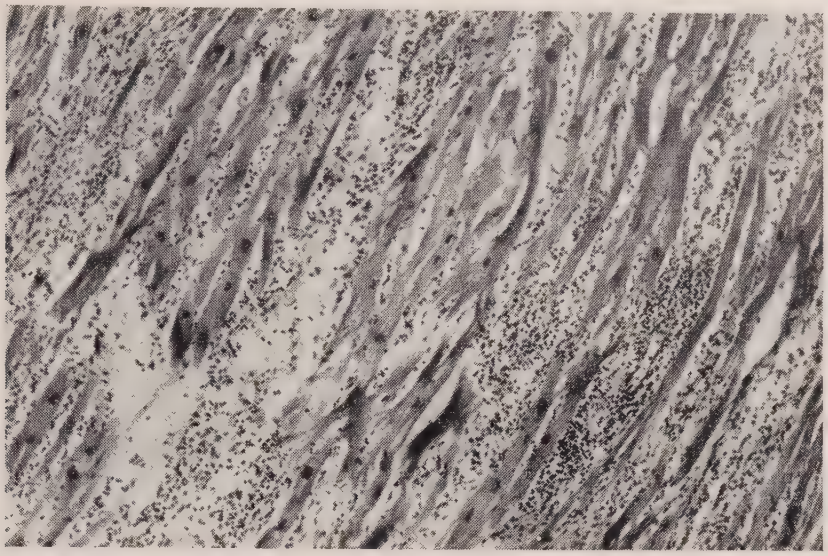


Fig. 22 — **Miocardite chagásica crônica.** Homem de 41 anos. Bloqueio de ramo direito e extrasístoles ventriculares. Morte súbita.

DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO

Os métodos de laboratório, atualmente empregados no diagnóstico da doença de Chagas, podem ser divididos em dois grupos:

1.º — métodos que visam a *comprovação parasitológica da infecção.* A demonstração do agente causal da esquizotripanose pode ser obtida por processos diretos ou indiretos;

2.º — métodos que evidenciam, por meio de reações sorológicas, a existência da infecção pelo *S. cruzi*. A positividade destas reações decorre da formação de anticorpos específicos pelo organismo.

A reação intradérmica e outros recursos laboratoriais até agora propostos, e que se baseiam em alterações inespecíficas dos elementos constitutivos do sangue, são destituidos de valôr no diagnóstico da esquizotripanose. A reação de aglutinação, igualmente, não tem encontrado aplicação prática.

COMPROVAÇÃO PARASITOLÓGICA DA INFECÇÃO

A — *Demonstração do S. cruzi por processos diretos.*

a) O *exame de sangue a fresco* consiste na observação microscópica, entre lâmina e lamínula, com objetiva a sêco de forte aumento (40X), de sangue colhido na polpa digital ou no lóbulo da orelha. Os tripanosomas são facilmente reconhecíveis, pelos seus ativos movimentos entre os glóbulos. Não raramente, o número de parasitos é muito escasso, requerendo, para o seu encontro, a observação rigorosa de

várias preparações ou mesmo a repetição do exame em dias sucessivos. O exame de sangue a fresco é preferível aos demais processos de demonstração direta do parasito, e, quando adequadamente conduzido, pode evidenciar, praticamente, todos os casos de esquizotripanose aguda.

b) Exame de *preparações de sangue coradas,* em gota espêssa ou em esfregaço. O exame em gota espêssa é feito colocando-se, sôbre uma lâmina limpa e sêca, duas ou três gotas de sangue e espalhando-as, em camada bem grossa, sôbre a mesma lâmina. Deixa-se secar e cora-se com a solução de Giemsa sem fixação prévia. Para evitar as alterações morfológicas que comumente ocorrem com o *S. cruzi* nestas preparações, Errecart aconselha acrescentar às gotas de sangue, uma gota de salina acética formolada (formol a 40%, 1 ml; ácido acético, 0,2 ml; salina, 100 ml), com a finalidade de fixar os tripanosomas. A preparação, depois de sêca, é deshemoglobinizada com solução de ácido acético a 0,5% e, em seguida, corada com Giemsa. Nos esfregaços é mais difícil o encontro do *S. cruzi;* êste método presta-se, porém, ao estudo morfológico do flagelado.

c) A *pesquisa direta de leishmânias* pode ser efetuada por biópsia dos pontos de entrada da infecção (conjuntiva ocular e chagomas de inoculação) ou dos seus gânglios tributários.

B — *Demonstração do S. cruzi por processos indiretos.*

a) O *xenodiagnóstico,* proposto por Brumpt, consiste na evidenciação do agente causal da doença de Chagas por intermédio de seu transmissor. Os triatomíneos empregados nesta prova devem ser seguramente livres da infecção; para isso, são criados no laboratório, a partir do ovo. Em cada prova, 5 a 10 insetos, no 3.º ou 4.º estádio evolutivo, são postos para sugar no paciente suspeito. O exame das dejeções dos triatomíneos, para a pesquisa do *S. cruzi,* é feito 50 a 60 dias depois de terem sugado o paciente. O xenodiagnóstico, quando efetuado uma única vez, é positivo em cêrca de 30% dos indivíduos com infecção crônica. O seu emprego está se restringindo ultimamente, para dar lugar à reação de fixação do complemento com antígenos de cultura do *S. cruzi.*

b) *Inoculação de sangue em animais sensíveis.* Deve preferir-se o cão jovem, a cobaia e o camundongo branco. O sangue é injetado, por via intra-peritoneal, na dose de 5 a 10 ml para o cão e a cobaia, conforme o pêso do animal, e de 0,5 ml para o camundongo branco. É aconselhável, especialmente na inoculação de camundongos, proceder-se a uma concentração do material a ser injetado. Para isso, centrifuga-se o sangue colhido com citrato de sódio, em velocidade média, para separar o plasma. Êste é em seguida centrifugado a 3000 rotações p.m. durante 15 minutos. O sobrenadante é desprezado, inoculando-se o depósito, suspenso em salina. Os animais são examinados, para a pesquisa do *S. cruzi* no sangue circulante, a partir do 15.º dia da inoculação.

c) O *hemocultivo* não constitui método aplicável na rotina. O *S. cruzi* desenvolve-se com facilidade nos meios de cultura comumente empregados para os hemoflagelados. Para o isolamento de amostras do *S. cruzi* é recomendado o meio de Bonacci n.º 4.

REAÇÕES SOROLÓGICAS

a) A *reação de fixação do complemento,* feita com antígenos preparados com formas de cultura do *S. cruzi,* representa o método laboratorial de escolha para o diagnóstico dos casos de infecção crônica. É também conhecida pela denominação de reação de Guerreiro & Machado, homenagem justa aos ilustres pesquisadores de Manguinhos que aplicaram pela primeira vez a reação de Bordet e Gengou no diagnóstico da esquizotripanose.

Os primitivos antígenos — constituidos por diferentes extratos de órgãos de animais infectados — foram substituidos, com grande vantagem, pelos antígenos preparados com formas de cultura do *S. cruzi* (antígeno hidroglicerinado de Kelser, antígeno alcoólico de Romaña & Dias, antígeno de Davis, no qual o "mertiolato", a 1:10.000 é usado como conservador). O antígeno de Davis é aquele de uso mais difundido. Recentemente, Freitas & Almeida introduziram a técnica quantitativa, no diagnóstico da doença de Chagas, pela reação de fixação do complemento; recomendam o emprêgo de um antígeno gelificado, por eles descrito. A reação de fixação do complemento fornece resultados positivos em mais de 95% dos casos de infecção chagásica crônica, e é dotada de grande especificidade. Estudos recentes mostram que, mesmo em indivíduos com leishmaniose tegumentar americana, não se observam reações cruzadas.

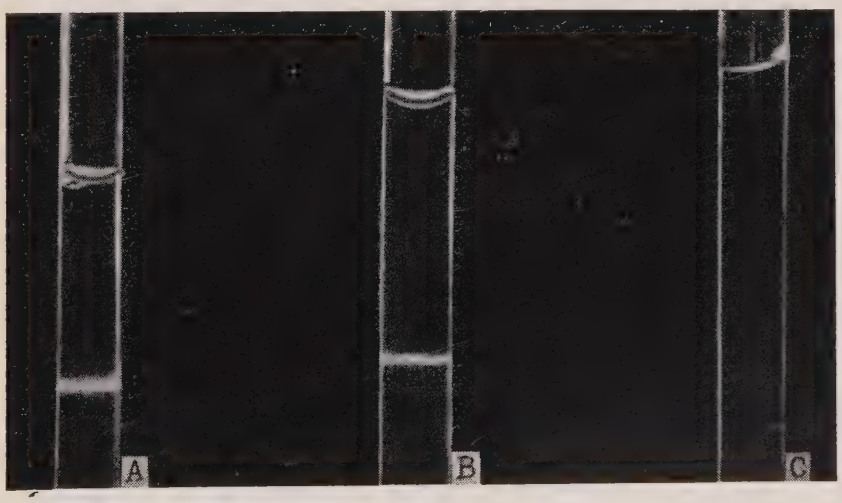


Fig. 23 — **Reação de precipitina positiva em sôros de casos agudos de doença de Chagas (A e B). Em C, contrôle com sôro fisiológico (Seg. Muniz, 1947).**

b) A *reação de precipitina,* com a fração polissacarídea isolada de formas de cultura do *S. cruzi,* pelo método de Fuller, foi proposta por Muniz & Freitas em 1944. Representa elemento auxiliar precioso no diagnóstico da doença de Chagas em sua fase inicial, já que resulta positiva, praticamente, em todos os casos. Na fase crônica, porém, o seu valôr decai muito; a percentagem de positividade é inferior a 20%. A técnica da reação é muito simples. Coloca-se, no fundo de um tubo de vidro de 2 a 3 mm de diâmetro interno, um pouco do sôro a ser examinado e, em seguida, deixa-se escorrer, lentamente, pelas paredes do tubo, o precipitinogêneo (solução *stock* da fração polissacarídea). Nas reações positivas forma-se, poucos minutos depois, na superfície de separação dos dois líquidos, um anel esbranquiçado, nítidamente visível (fig. 23). A reação de precipitina pode ser feita com sangue colhido na polpa digital, o que facilita o seu emprêgo em crianças e em casos em que é difícil o acesso às veias.

c) A *hemólise condicionada,* reação imunobiológica aplicada recentemente por Muniz no diagnóstico da doença de Chagas. Quando hemátias de indivíduos com infecção esquizotripanósica crônica, previamente adsorvidas com a fração polissacarídea do *S. cruzi,* são postas em presença dos próprios sôros não inativados dos doentes, sofrem o fenômeno da hemólise. Ao contrário da hemólise específica, decorrente da ação direta de um sensibilizador hemolítico sôbre os componentes do próprio glóbulo, no caso estudado por Muniz, ela decorre da ação de um sensibilizador específico para a fração adsorvida, que, reagindo com ela em presença do complemento, acasiona a hemólise. Os dados acumulados são ainda insuficientes para se avaliar o valôr desta prova como elemento diagnóstico.

TERAPÊUTICA

Até o presente não se conhece nenhum medicamento dotado de ação específica sôbre as formas intracelulares do agente causador da doença de Chagas, elementos que mantêm, pela sua multiplicação, a continuidade da infecção. Os agentes quimioterápicos que até agora se mostraram dotados de ação específica para o *S. cruzi,* exercem sua atividade unicamente sôbre as formas sanguícolas do flagelado. Representam, entretanto, mesmo na incapacidade de deter completamente a infecção, recurso terapêutico de real valôr quando devidamente aplicados na fase aguda da infecção, pois podem reduzir consideravelmente a parasitemia e produzir uma regressão sensível e bastante rápida das manifestações clínicas. Mazza refere que várias crianças, na fase aguda da infecção, e com manifestações cardíacas ou meningoencefálicas graves, foram tratadas, com êxito, pelo "Bayer" 7602 (Ac), um derivado da quinoleina.

Ao avaliar o efeito terapêutico dos compostos empregados no tratamento da doença de Chagas, é preciso levar em conta que, em cêrca de 90% dos casos de infecção aguda, os sintomas regridem espontaneamente, após um tempo variável, mesmo que não tenha sido instituido qualquer tratamento.

Ultimamente, em investigações experimentais ou na doença humana, ensaiou-se uma série de medicamentos, sem se observarem efeitos favoráveis: melarsen (arsenical pentavalente), óxido de melarsen (arsenical trivalente), valdesina (hexonato de antimônio), lomidine, glucantime, ácido p. aminosalicílico, hetrazan, ACTH, TB1, cortisome, quinina, cloroquina, etc. Resultados negativos foram também obtidos com os seguintes antibióticos: penicilina, aureomicina, cloromicetina, estreptomicina e terramicina.

As medidas gerais a serem tomadas, e os agentes quimioterápicos específicos e sintomáticos recomendáveis, são diferentes caso os doentes estejam na fase aguda ou crônica da infecção. Portanto, consideraremos à parte estas duas eventualidades.

FASE AGUDA

Medidas gerais

1 — O *repouso* no leito é imprescindível, convindo prolongá-lo até que desapareçam as manifestações agudas da moléstia. Durante a convalescença, deverá ser prescrito o repouso ambulatório relativo, sobretudo nos casos que tiveram comprometimento cardíaco.

2 — A *dieta* deverá ser rica em prótides e em calorias. Estas, são mais eficientemente fornecidas pelos hidratos de carbono. As gorduras mostram-se pouco toleradas, principalmente em crianças de baixa idade, sugeitas que estão aos distúrbios gastroentéricos. Nos casos em que os vômitos e as diarréias constituem obstáculo à alimentação, as necessidades plásticas e energéticas serão supridas por via parenteral (preparações de aminoácidos e sôro glicosado).

A administração de líquidos deverá ser cautelosa, especialmente nos casos de comprometimento cardíaco evidente. Igualmente agravante dos fenômenos congestivos da insuficiência cardíaca é o cloreto de sódio, por intermédio do seu ion sódio. O seu uso deve então ser restringido.

As vitaminas, sobretudo o ácido ascórbico e a tiamina, devem ser empregadas, em doses sempre superiores às necessidades normais e pelas vias oral (suco de frutas e preparados sintéticos) ou parenteral (preparados sintéticos).

3 — O *extrato hepático* tem sido aconselhado por vários autores. Em virtude do acentuado comprometimento hepático verificado na fase aguda, serão também úteis os *agentes lipotrópicos* (colina, metionina, inositol, lipocaico).

Os *sedativos* (hidrato de cloral, luminal) são usados para as convulsões que ocorrem frequentemente nas formas meningoencefálicas da moléstia.

Os *cardiotônicos* e os *diuréticos purínicos* têm sido preconizados, êstes como meio terapêutico auxiliar na fusão dos edemas, e aqueles, na cardiopatia aguda descompensada.

Medicamentos específicos

1 — O *"Bayer" 7602 (Ac)* — sulfato da dialil — malonil diamida da 2— metil 4,6, —diamino quinoleina — e seu equivalente, o *M. 3024* da "Imperial Chemical Industries", são recomendados por MAZZA, especialmente nos casos graves com manifestações meningoencefálicas. São empregados em solução aquosa a 3%, em injeções intramusculares profundas, diariamente, ou em dias alternados. A dose total útil aconselhada é de 120 a 150 mg por kilo de peso para lactentes e de 60 a 100 mg por kilo de peso para crianças maiores. É aconselhável repetir a administração do 7602 (Ac) Bayer ou do M. 3024 I.C.I. depois de um período de intervalo. Êstes medicamentos podem provocar uma albuminúria, o que obriga a suspender o tratamento até o seu desaparecimento. Se entretanto, nos casos graves, for urgente a administração do medicamento, deve-se diminuir a dosagem. Desaparecida a albuminúria, de regra esta não reaparece em tratamento posterior, desde que a medicação seja interrompida por 4 a 5 dias.

2 — O preparado *9736 (As)*, arsenobenzol sulfurado, experimentado por MAZZA e colaboradores, mostrou-se melhor tolerado que o 7602 (Ac), mas dotado de menor atividade terapêutica. A dose total recomendada para crianças é de 30 ml, em injeções de 1,5 ml.

3 — O *etanosulfonato de carbidium* (derivado da fenantridina) e o *Spirotrypan* (arsenobenzol lançado pela "Hoechst") têm sido igualmente empregado com resultados aparentemente favoráveis.

FASE CRÔNICA

O tratamento da cardiopatia chagásica crônica constitui problema raramente enfrentado na infância. As manifestações cardíacas, consequências tardias da infecção, apresentam-se em percentagem relativamente baixa na criança, e nela são extremamente raras as manifestações de insuficiência cardíaca. As crianças com evidências eletrocardiográficas de comprometimento miocárdico e sem sintomatologia clínica — êstes constituem os casos comumente observados — devem ser incluidas na classe B da nomenclatura terapêutica internacional para os cardíacos. Devem ser evitados quaisquer tipos de esforços físicos exagerados.

Às crianças com cardiopatia crônica descompensada serão proporcionadas as medidas terapêuticas aplicadas nas cardiopatias em geral.

PROFILAXIA

Não se dispondo, até o presente, de nenhuma terapêutica realmente eficaz, que viesse beneficiar os indivíduos já infectados, o combate à doença de Chagas deve ser orientado visando a eliminação dos transmissores domiciliares da moléstia, a melhoria das habitações e a educação sanitária.

"Uma das soluções eficientes para o contrôle da enfermidade seria a substituição, nas áreas infestadas, de tôdos os mocambos, habitações de barro batido, sopapo, taipa ou sapê, por prédios de tijolos bem rebocados, evitando-se, desse modo, as frinchas das paredes e das madeiras mal aparelhadas, onde os "barbeiros" vivem e de onde costumam sair à noite para os seus repastos no sangue dos moradores. Esse processo é, porém, custoso e lento, não só pelo vulto das despesas necessárias, como, ainda, por outras dificuldades, que surgem à primeira e superficial apreciação realista do problema. Pensou-se no remendo com barro novo das frinchas das paredes, *habitat* do inseto. Tal método seria, no entanto, impraticavel, porque novas rachaduras e frinchas sobreviriam e constituiria um labutar penoso e improdutivo esse de rebocar interminavelmente paredes, que, interminavelmnte, se punham de novo a rachar e se esboroar. Outra medida eficaz, mas na mesma ordem de impraticabilidade, por muitos e análogos fatores, seria a vigilância dos poderes municipais contra a construção de residências com barro batido e a exigência de tijolos cozidos e rebôco bem acabado em quaisquer novas habitações. Portanto, deante do pauperismo rural e outros obstáculos, facilmente imagináveis e comprehensíveis, no meio como o nosso, caracterizado ainda por extremas precariedades de recursos de tôda a ordem, o meio mais prático e, sôbre muitos aspectos, o mais econômico, é a borrificação das habitações com os inseticidas que se mostrarem mais enérgicos" (Pinotti).

Atualmente, dois inseticidas de intensa ação letal e de prolongada ação residual sôbre os triatomíneos, têm sido empregados em expurgos domiciliares, com resultados altamente satisfatórios: o isômero gama da hexaclorociclohexana ("Gammexane", "Lexone", "BHC") e o tiofosfato o' dietil o" paranitrofenil ("Rhodiatox"). A dose mínima eficaz destes inseticidas, por metro quadrado, varia de acordo com o tipo da habitação, sendo, de um modo geral, tanto maior quanto menor a regularidade das paredes a serem tratadas. O isômero gama, sendo menos tóxico e requerendo, por conseguinte, menor cuidado na sua aplicação, é preferível ao tiofosfato. É empregado sob a forma de suspensão ou emulsão, conforme o tipo da casa, na dose mínima de 0,5 gr por metro quadrado. Em geral são realizados dois expurgos sucessivos, com um intervalo de 3 a 4 meses, e, posteriormente, pelo menos um expurgo anual de manutenção. A diminuição da população de "barbeiros" já é muito acentuada após o primeiro expurgo.

Os inseticidas à base de piretro ("Fly-Tox"), exercem forte ação repelente sôbre os triatomíneos. Por esta propriedade, representam elemento de grande valôr no levantamento epidemiológico dos transmissores da esquizotripanose, e no contrôle dos resultados de expurgos feitos com inseticidas de ação residual.

Nestes últimos anos, uma série de campanhas profiláticas, com inseticidas de ação residual, vêm sendo desenvolvidas, em larga escala, em vários paises sul-americanos.

Cumpre também evitar a possibilidade da transmissão da doença de Chagas pelos Serviços de Transfusão de Sangue, tornando obrigatória a inclusão da reação de fixação do complemento com antígenos de *S. cruzi*, entre os métodos laboratoriais de rotina aplicados na seleção dos candidatos a doadores de sangue.

BIBLIOGRAFIA

INTRODUÇÃO — HISTÓRICO

ARTEAGA, C. L.

1929. Investigaciones sobre la existencia de la enfermedad de Chagas en la zona del ferrocarril a la costa (Provincia del Guayas). Rev. Univ. Guayaquil, 1 (1): 89-101; 1 (2): 290-312.

BRUMPT, E., MAZZOTTI, L. & BRUMPT, L. C.

1939. Enquêtes epidemiologiques sur la maladie de Chagas au Mexique. Reduvidés vecteurs, animaux réservoirs de virus, cas humains. Ann. Paras., 17: 299-312.

BÜLOW, T. VON

1941. Tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). Primeros casos en Costa Rica. Rev. Med., San José, 4: 497-520.

CHAGAS, C.

1909. Neue Trypanosomen. Vorläufige Mitteilung. Arch. f. Schiffs. —u. Tropenhyg., 13 (4): 120-122.

CHAGAS, C.

1909. Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Arch. f. Schiffs. —u. Tropenhyg., 13: 351-353.

CHAGAS, C.

1909. Nouvelle espèce de trypanosomiase humaine. Bull. Soc. Path. Exot., 2 (6): 304-307.

CHAGAS, C.

1909. Nova especie morbida do homem, produzida por um trypanosoma (*Trypanosoma cruzi*). Nota prévia. Brasil Medico, 23 (16): 161.

CHAGAS, C.

1909. Nova tripanosomiase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n.gen., n.sp., agente etiologico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1 (2): 159-218.

CHAGAS, C.

1910. Sobre a etiologia do bocio endemico no Estado de Minas Gerais. Brasil Medico, 24 (17): 163.

CHAGAS, C.

1922. Descoberta do *Trypanosoma cruzi* e verificação da Trypanozomiase Americana. Retrospecto historico. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 15: 67-76.

CHAGAS, E.

1936. Comentario sobre a vida e a obra de Carlos Chagas. Nov. Reun. Soc Argent. Patol. Reg., Mendoza, 1: 1-19.

ESCOMEL, E.

1919. La trypanosomiase humaine dans les forêts orientales du Pérou. Bull. Soc. Path. Exot., 12: 723-726.

FLOCH, H. & TASQUÉ, P.

1940. Un cas de maladie de Chagas en Guyane Française. An. Inst. Pasteur Guayane et Terr. Inini, 2: 1-4.

GASIC, G.

1939. Primer caso agudo de enfermedad de Chagas en Chile. Rev. Med. Chile, 67: 12-20.

GONZALEZ, G. & RIVAROLA, J. B.

1940. Enfermedad de Chagas aguda. Primer caso autoctono identificado en el Paraguay. An. Fac. Ciencias Med., 7: 39-56.

MAZZA, S. & CHACON, R. V.

1943. Primeros animales domesticos y seres humanos com *Schizotrypanum cruzi* comprobados en Bolivia. Prensa Med. Argent., 30 (9): 365-367.

MILLER, J. W.

1931. Chagas' disease in Panama: report of three cases. South. Med. Jour., 24: 645-647.

MÜHLENS, P.

1924. Comunicación preliminar sobre parásitos sanguíneos en el norte argentino. Rev. Assoc. Méd. Arg., 37: 205-220.

OTALORA, B.

1942. Enfermedad de Chagas en Colombia. Med. & Cir., Bogotá, 6: 253-255; 257-263; 265-268.

PELLEGRINO, J.

1951. A doença de Chagas em Minas Gerais. Esboço crítico dos trabalhos publicados até 1951. Belo Horizonte. 83 pp.

REICHENOW, E.

1933. *Cit. in* Reichenow, E. 1934. Beiträge zur Kentnis der Chagaskrankheit. Arch. f. Schiffs. —u. Tropenhyg., 38:459-518.

SEGOVIA, J. C.

1913. Un caso de tripanosomiasis. Arch. Hosp. Rosales, 8 (87): 249-254.

TALICE, R. V., MEDINA, F. & RIAL, B.

1937. Primer caso de enfermedad de Chagas en el Uruguay. An. Fac. Med. Montevideo, 22:27.

TEJERA, E.

1919. La trypanosomose americaine ou maladie de Chagas au Venezuela. Bull. Soc. Path. Exot., 12:509-513.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E INCIDÊNCIA

BRIONES, S.

1951. Xenodiagnostico para enfermedad de Chagas en niños de la Gobernación de la Pampa. An. Inst. Med. Reg., Tucumán, 3 (2): 147-152.

DAVIS, D. G. & SULLIVAN, T. S.

1946. Complement fixation tests for American Trypanosomiasis in Texas. Publ. Health. Rep., 61 (29): 1083-1084.

DIAS, E.

1950. Considerações sôbre a doença de Chagas. O Hospital, 37 (2): 253-258.

DIAS, E.

1951. Doença de Chagas nas Américas. I — Estados Unidos. Rev. Brasil. Malar. e Doenças Trop., 3 (3): 448-472.

DIAS, E. & LARANJA, F. S.

1948. Chagas' disease and its control. Fourth Int. Congr. Trop. Med. & Malaria. Proceedings: 2: 1159-1167.

DIAS, E., LARANJA, F. S. & PELLEGRINO, J.

1948. Estudos sobre a importância social da doença de Chagas. I — Inquérito clínico-epidemiológico feito nas vizinhanças de Bambuí, oeste de Minas Gerais. Brasil Medico, 62: 412-413.

DIAS, E., LARANJA, F. S. & PELLEGRINO, J.

1950. Inquérito clínico-epidemiológico sôbre doença de Chagas feito entre as estações de Iguatama e Campos Altos, oeste de Minas Gerais. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1: 33-34.

DINIZ, O.

1949. Lepra e doença de Chagas. Arq. Min. Leprologia, 9 (3): 156-171.

DINIZ, O. & PELLEGRINO, J.

1948. A reação de fixação do complemento com antígeno de cultura do *Shizotrypanum* cruzi em sôros de leprosos. Arq. Min. Leprol., 8 (2): 111-120.

FARIA, R., VASCONCELLOS, F. & ROSENFELD, G.

1948. Contribuição ao estudo da doença de Chagas na 2.ª Região Militar. Rev. Med. Militar, 37 (2): 229-250.

FREITAS, J. L. P.

1948. Orientação para o diagnóstico das formas crônicas da moléstia de Chagas. Rev. Clin. S. Paulo, 24 (1-2): 1-9.

FREITAS, J. L. P.

1948. O problema da moléstia de Chagas. Rev. Paul. Med., 33 (2): 83-90.

FREITAS, J. L. P.

1952. Reação de fixação do complemento para o diagnóstico da moléstia de Chagas pela técnica quantitativa; vantagens do método e sua aplicação em Saúde Pública. O Hospital, 41 (2): 257-267.

FREITAS, J. L. P. & ALMEIDA, J. P.

1951. Inquérito sorológico sôbre moléstia de Chagas realizado no município de Echaporã, Estado de São Paulo. IX Congr. Brasil. Higiene. Porto Alegre.

FREITAS, J. L. P. & MENDONÇA, W.

1951. Inquérito sôbre a moléstia de Chagas no município de Rio Verde, Estado de Goiaz. O Hospital, 39 (2): 251-261.

FREITAS, J. L. P. & Cols.
1950. Resultados de um inquérito sôbre moléstia de Chagas realizado no município de São Carlos (Estado de São Paulo, Brasil) e arredores. Folia Clin. et Biol., 16 (2): 150-157.

FREITAS, J. L. P. & Cols.
1952. Moléstia de Chagas em Bancos de Sangue na capital de São Paulo. O Hospital, 41 (2): 229-236.

GESTEIRA, M.
1951. Sinopse das atividades do Departamento Nacional da Criança em 1951. Programa de trabalho para 1952. Bol. Inst. Pueric., 19-20: 11-41.

JUCÁ, A. & CUNHA, R. V.
1950. Contribuição ao estudo da doença de Chagas no Ceará. Ceará Med., 29:36.

LEON, L. A.
1949. Información sobre el problema de la enfermedad de Chagas en el Ecuador. Bol. Of. San. Panam., 28 (6): 569-585.

MAZZA, S.
1949. La enfermedad de Chagas en la Republica Argentina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 47 (1-2): 273-288.

MAZZOTTI, L. & DIAS, E.
1949. Resumen de los datos publicados sobre la enfermedad de Chagas en Mexico. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., 10 (1-4): 103-111.

MONTALVÁN, C. J. A.
1950. Algunas consideraciones sobre el problema de la enfermedad de Chagas en el Ecuador. Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop., 7 (1-2): 1-6.

NEGHME, A., ROMÁN, J. & SOTOMAYOR, R.
1949. Nuevos datos sobre la enfermedad de Chagas en Chile. Bol. Of. Sanit. Panam., 28 (8): 808-817.

PELLEGRINO, J. & BORROTCHIN, M.
1948. Inquérito sôbre a doença de Chagas no Hospital da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 46 (2): 419-457.

PELLEGRINO, J., BORROTCHIN, M., LEITE, G. & BRENER, Z.
1951. Inquérito sôbre a doença de Chagas em candidatos a doadores de sangue. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 49: 555-564.

PELLEGRINO, J. & BRENER, Z.
1951. Profilaxia de um foco de doença de Chagas nas proximidades de Belo Horizonte (Cidade Industrial). Rev. Assoc. Med. M. Gerais, 2 (2): 233-250.

PELLEGRINO, J. & BRENER, Z.
1952. Dados ainda não publicados.

PELLEGRINO, J. & REZENDE, C. L.
1953. A doença de Chagas em crianças de idade escolar. I — Resultados de inquérito feito no grupo "João Pessôa", em Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil). O Hospital, 43 (2): 241-250.

PELLEGRINO, J., REZENDE, C. L. & BRENER, Z.

1952. Métodos e critérios para a realização de inquéritos sôbre doença de Chagas em crianças. Jornal de Pediatria, 17: 224-228.

PELLEGRINO, J., REZENDE, C. L. & CANELAS, A.

1952. A doença de Chagas em crianças de idade escolar. II — Inquérito realizado em Várzea da Palma (Município de Pirapora, Minas Gerais). Em publ.

PERRIN, T. G., DIAS, E. & BRENES, M.

1947. Nota prévia sôbre as primeiras comprovações sorológicas de doença de Chagas no México. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 45 (2): 395-400.

PIFANO, F. C. & Cols.

1950. Estado actual de las investigaciones sobre la enfermedad de Chagas en el Valle Yaracuy, Venezuela. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1:91-95.

RAMOS, J., FREITAS, J. L. P. & BORGES, S.

1949. Moléstia de Chagas. Estudo clínico e epidemiológico. Arq. Brasil. Cardiol., 2 (2): 111-162.

REZENDE, C. L., PELLEGRINO, J. & CANELAS, A.

1953. Inquérito sôbre a doença de Chagas em crianças internadas em hospitais de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil). O Hospital, 43 (2): 241-250.

RODRIGUEZ, M. J.

1950. Immunidad en la enfermedad de Chagas. Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop., 7 (1-2): 65-74.

ROMÁN, J., PALMA, A. & CEA, O.

1948. Algunos aspectos de la epidemiologia de la enfermedad de Chagas en la provincia de Coquimbo. Bol. Inst. Bact. Chile, 5: 14-19.

ROMAÑA, C.

1948. Xenodiagnósticos colectivos. An. Inst. Med. Reg. Tucumán, 2 (2): 185-196.

ROMAÑA, C., GIL, J. & ROMAÑA, M. S.

1946. Indices de infección de niños por *S. cruzi* en escuelas de Tucumán, Santiago del Estero y Catamarca. An. Inst. Med. Reg. Tucumán, 1 (3): 317-332.

ROMAÑA, C. & KIRCHBAUM, M.

1951. Encuesta sobre enfermedad de Chagas en las vecindades de Andalgalá (Catamarca). An. Inst. Med. Reg. Tucumán, 3 (2): 123-128.

TALICE, R. V.

1948. Indice de infección tripanosómica humana en el Uruguay. An. Fac. Med. Montevideo, 33 (5-7):466-478.

UNTI, C. & SILVA, T. L.

1951. Levantamento da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo pela reação sorológica. IX Congr. Brasil. Higiene. Porto Alegre.

ETIOLOGIA

DIAS, E.
1934. Estudos sôbre o *Schizotrypanum cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 28(1): 1-111.

DIAS, E.
1934. *Trypanosoma cruzi* ou *Schizotrypanum cruzi* ?. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 29 (1): 203-215.

DIAS, E.
1939. O genero *Schizotrypanum* Chagas, 1909. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 34(2): 193-227.

EPIDEMIOLOGIA

ALBUQUERQUE, A. F. R., BRITO, S. & MORAIS, M. O.
1942. Importante foco de mal de Chagas e leishmaniose visceral no Vale do Cariri (Estado de Ceará e Pernambuco). O Hospital, 21 (1): 61-69.

ALMEIDA, A. S.
1948. Doença de Chagas no norte do Paraná. An. Paul. Med. Cir., 26 (1): 29-36.

ALVAREZ, C. J.
1947. Informaciones epidemiológicas de la enfermedad de Chagas. Gac. Med. (Guayaquil), 1 (6): 311-318.

BRUMPT, E.
1913. Evolution de *Trypanosoma lewisi, duttoni, nabiasi, blanchardi*, chez les pouces et les punaises. Transmission par les déjections. Comparaison avec *T. cruzi*. Bul. Soc. Path. Exot., 6 (3): 168-172.

CARDOSO, F. A.
1938. Sur le mechanisme de la transmission de la maladie de Chagas. An. Paras. Hum & Comp., 16(4):341-349.

CHAGAS, C.
1909. Nova tripanosomiase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiologico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1:158-218.

CHAGAS, C.
1912. Sobre um *Trypanosomo* do Tatú (*Tatusia novemcincta*) transmittido pelo *Triatoma geniculata* Latr. 1811. Possibilidade de ser o tatú um depositario do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior. Brasil Medico, 26(30): 305-306.

CHAGAS, C.
1934. Estado actual da trypanosomiase americana. Rev. Biol. Hig., 5: 58-64.

DIAS, E.
1934. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 28(1): 1-111.

DIAS, E. & LARANJA, F. S.
1948. Chagas' disease and its control. Fourth Int. Congr. Trop. Med. & Malaria. Proceedings, 2: 1159-1167.

FREITAS, J. L. P.

1950. Observações sôbre xenodiagnósticos praticados em reservatórios domésticos e silvestres do *Trypanosoma cruzi* em uma localidade endemica de moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. O Hospital, 38 (4): 521-529.

FREITAS, J. L. P.

1950. Dados atuais sôbre a distribuição de triatomídeos e moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. Rev. Paul. Med., 37 (3): 227-236.

FREITAS, J. L. P. & Cols.

1952. Primeiras verificações de transmissão acidental da moléstia de Chagas ao homem por transfusão de sangue. Rev. Paul. Med., 40 (1): 36-40.

HERRER, A. & AYULO, V. M.

1944. Estudios sobre Trypanosomiasis americana en el Perú. Observaciones entomológicas. Rev. Med. Exp. (Lima), 3: 118-131.

HOARE, C. A.

1934. The transmission of Chagas' disease. A critical review. Trop. Dis. Bull., 31 (11): 757-762.

LUCENA, D.

1941. Existe a moléstia de Chagas em Pernambuco? Africa Medica, n.º 3.

LUTZ, A. & MACHADO, A.

1915. Viajem pelo Rio São Francisco e por alguns dos afluentes, entre Pirapora e Joazeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 7: 5-50.

MARTINS, A. V., VERSIANI, *W.* & PERES, J. N.

1951. Distribuição geográfica dos triatomídeos e seus índices de infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* no Estado de Minas Gerais. Arq. Saude Publica Est. M. Gerais. 2(1): 63-79.

MAZZA, S. *in* USINGER, R. L.

1944. The *Triatominae* of North and Central America and West Indies and their public health significance. Public Health Bull., n.º 288. 81 pp.

MAZZA, S., MONTANA, A., BENITEZ, C. & JANZI, E. Z.

1936. Transmissión de *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de la madre con enfermedad de Chagas. M.E.P.R.A. publ. n.º 28. pp. 41-46.

MAZZOTTI, L.

1940. Triatomídeos de Mexico y su infección natural por *Trypanosoma cruzi* Chagas. Medicina, Rev. Mexicana, 20(358): 95-110.

NATTAN-LARRIER, L.

1928. L'hérédité de la maladie de Chagas. Bull. Acad. Med., 99: 97-99.

NEGHME, A., ROMÁN, J. & SOTOMAYOR, R.

1949. Nuevos datos sobre la enfermedad de Chagas en Chile. Bol. Ofic. San. Panam., 28(8): 808-817.

NEIVA, A.

1910. Informações sobre a biolojia do *Conorhinus megistus* Burm. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 2 (2): 206-212.

NEIVA, A.

1913. Informações sobre a biolojia da vinchuca, *Triatoma infestans*, Klug. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 5(1): 24-31.

NEIVA, A. & LENT, H.

1936. Notas e comentarios sobre Triatomídeos. Lista de especies e sua distribuição geografica. Rev. Entom. (Rio), 6 (2): 153-190.

NEIVA, A. & LENT, H.

1941. Sinopse dos triatomídeos. Rev. Entomol. (Rio), 12 (1-2): 61-92.

PACKCHANIAN, A.

1939. Natural infection of *Triatoma gerstakeri* with *Trypanosoma cruzi* in Texas. Publ. Health. Rep., 54(34): 1547-1554.

PACKCHANIAN, A.

1940. Natural infection of *Triatoma heidemanni* with *Trypanosoma cruzi* in Texas. Public. Health Rep., 55 (29): 1300-1306.

PELLEGRINO, J.

1949. Transmissão da doença de Chagas pela transfusão de sangue. Primeiras comprovações sorológicas em doadores e em candidatos a doadores de sangue. Rev. Brasil. Med., 6 (5): 297-301.

PELLEGRINO, J.

1951. Transmissores da doença de Chagas no Estado de Minas Gerais. Rev. Assoc. Med. M. Gerais, 2 (1): 43-66.

PELLEGRINO, J. & Cols.

1951. Inquérito sôbre a doença de Chagas em candidatos a doadores de sangue. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 49: 555-564.

PIFANO, F. C., PINTO, H. B., MEDINA, R., RÖMER, M. & DOMINGUEZ, E. C.

1950. Estado actual de las investigaciones sobre enfermedad de Chagas en el Valle de Yaracuy, Venezuela. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1: 91-95.

PINOTTI, M.

1952. A situação actual no Brasil da luta contra a malária e a doença de Chagas. Rev. Brasil. Med., 9(4): 262-267.

PINTO, C.

1925. Ensaio monografico dos reduvideos hematofagos ou *barbeiros*. Rio, 118 pp.

PONDÉ, A. & Cols.

1946. A doença de Chagas na Bahia. An. Fac. Med. Univ. Bahia, 1: 332-456.

REICHENOW, E.

1934. Beiträge zur Kentnis der Chagaskrankheit. Arch. f. Schiffs. —u. Tropenhyg., 38: 459-519.

SOUZA CAMPOS, E.

1932. Trypanosomiase americana congenita experimental do cão. Medicina Pratica, 2: 57-70.

TALICE, R. V., COSTA, R. S., RIAL, B. & OSIMANI, J. J.
1940. Los 100 primeros casos agudos confirmados de enfermedad de Chagas (Trypanosomiasis americana) en el Uruguay. Estudio epidemiológico, clínico y parasitológico. A. Monteverde Ed. Montevideo. 349 pp.

TORRICO, R. A. M.
1950. Conocimientos actuales sobre la epidemiologia de la enfermedad de Chagas en Bolivia. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1:67-74.

VILLELA, E.
1923. A transmissão intra-uterina da moléstia de Chagas. Encefalite congenita pelo *Trypanosoma cruzi*. Nota previa. Folha Med., 4:41.

WHITING, C.
1946. Contribución al estudio de las reservas de parásitos de la enfermedad de Chagas en Chile. Primeros hallazgos de mamiferos silvestres infectados. Tese. Santiago de Chile.

WOOD, S. F.
1941. Notes on the distribution and habits of Reduviid vectors of Chagas' disease in the Southwestern United States. Pan. Pac. Ent., 17: 85-94.

WYGODZINSKY, P.
1949. Elenco sistematico de los Reduviformes Americanos. Inst. Med. Regional, Tucumán. Monogr. n.º 1. 102 pp.

PATOGENIA

CHAGAS, C.
1916. Processos patogenicos da trypanosomiase americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 8: 7-36.

DIAS, E.
1934. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 28 (1): 1-111.

DIAS, E.
1939. O genero *Schizotrypanum* Chagas, 1909. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 34 (2): 193-227.

MAZZA, S., BASSO, G., BASSO, R., JÖRG, M. E. & MIYARA, S.
1943. Naturaleza histopatológica de reacciones alérgicas cutáneas provocadas en chagásicos con lisados de cultivos de *S. cruzi*. M.E.P.R.A. publ. n.º 64. 143 pp.

MAZZA, S. & JÖRG, M. E.
1940. Reproducción experimental de nódulos de histiocitosis del granuloma chagásico mediante el fenomeno de Shwartzman. M.E.P.R.A. publ. n.º 47. 18 pp.

MUNIZ, J. & AZEVEDO, A. P.
1947. Novo conceito da patogenia da doença de Chagas (Trypanosomiasis americana). O Hospital, 32 (2): 165-183.

MUNIZ, J. & AZEVEDO, A. P.
1950. Novo conceito da patogenia da doença de Chagas. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1: 55-56.

ROMAÑA, C.

1943. Contribuição ao conhecimento da patogenia da tripanosomose americana. Período inicial da infecção. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 39: 253-264.

TORRES, M. C.

1929. Patogenia de la miocarditis crónica en la enfermedad de Chagas. Quinta Reun. Soc. Pat. Reg. Norte, 2: 902-916.

VIANNA, G.

1911. Contribuição para o estudo da anatomia patolojica da molestia de Chagas (Esquizotripanoze humana ou tireoidite parazitaria). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 3 (2): 276-294.

CLÍNICA

AGUIRRE, A. & GIMENEZ, C.

1939. Consideraciones de semiologia radiológica sôbre 168 Roentgencardiometrias en la enfermedad de Chagas. VI Congr. Nac. Med., Cordoba, 3: 150-154.

ALVAYAY, J. & CARVAJAL, V.

1941. Tripanosomiasis cardiaca americana. Investigación clínica y electrocardiográfica. Rev. Med. Chile, 69 (12): 833-840.

BRASIL, A.

1946. Forma cardíaca crônica da doença de Chagas. O Hospital, 29 (2): 199-224.

BRASIL, A. & PELLEGRINO, J.

1951. Cardiopatia crônica chagásica em um menino de 10 anos com bloqueio A-V completo. 1.º Congr. Assoc. Med. M. Gerais. Programa: 22-23.

BULCÃO, J.

1950. Megaesofago e doença de Chagas. Arq. de Clin. (Rio), 10 (1): 34-44.

CARVALHEIRO DIAS, J.

1950. A cardiopatia crônica da moléstia de Chagas. Res. Clin. Cient., 19 (1):9-17; 19 (2):53-61.

CHAGAS, C.

1909. Nova tripanozomiase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*, n. gen., n. sp., agente etiologico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1(2): 159-218.

CHAGAS, C.

1910. Nova entidade morbida do homem. Forma cronica. Brasil Medico, 24 (44): 433-437.

CHAGAS, C.

1910. Aspecto clinico geral da nova entidade morbida produzida pelo *Schizotrypanum cruzi*. Nota prévia. Brasil Medico, 24 (27): 263-265.

CHAGAS, C.

1910. Nova entidade morbida do homem. Forma cardiaca. Brasil Medico, 24 (45): 443-447.

CHAGAS, C.
1910. Nova entidade morbida do homem. Rezumo geral dos estudos etiolojicos e clinicos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 3 (2): 219-275.

CHAGAS, C.
1911. Molestia de Carlos Chagas ou Thyreoidite parasitaria. Nova doença humana transmittida pelo *barbeiro* (Conorhinus megistus). Typ. Leuzinger. Rio. 28 pp.

CHAGAS, C.
1912. O mal de Chagas. Arch. Soc. Med. Cir. S. Paulo, 3 (910): 24-66.

CHAGAS, C.
1913. Les formes nerveuses d'une nouvelle Trypanosomiase. Nouvelle Iconographie de la Salpetrière, 1:1-8.

CHAGAS, C.
1916. Processos patojenicos da tripanozomiase americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 8 (2): 7-36.

CHAGAS, C.
1916. Tripanosomiase Americana. Forma aguda da molestia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 8 (2): 37-60.

CHAGAS, C.
1916. Aspectos clinicos y anátomo-patológicos de la tripanosomiasis americana. Prensa Med. Argent. 10 out., separado.

CHAGAS, C.
1918. Trypanosomiase Americana. Synonimia: doença do barbeiro. Rev. do Brasil. (S. Paulo), separado com 33 pp.

CHAGAS, C.
1925. Amerikanische Trypanosomiasis (Chagas-Krankheit). Kurze ätiologische und Klinische Betrachtungen. Folheto com 14 pp.

CHAGAS, C.
1925. Einige Ausdrucksformen der Amerikanischen Trypanosomiasis (Chagas-Krankheit). Folheto com 9 pp.

CHAGAS, C.
1928. A forma cardiaca da trypanosomiase americana. Arch. Brasil. Med., 18: 46-56.

CHAGAS, C.
1928. Sur les altérations du coeur dans la Trypanosomiase Américaine. Arch. Mal. Coeur, 21(10):641-655.

CHAGAS, C.
1934. Estado actual da trypanosomiase Americana. Rev. Biol. e Higiene, 5 (2): 58-64.

CHAGAS, C. & CHAGAS, E.
1935. Manual de doenças tropicais e infectuosas. I — Parte geral. Doenças produzidas por protozoarios. Doenças produzidas por espiroquetas e espirilos. Almanak Laemert. Rio. 192 pp.

CHAGAS, C. & VILLELA, E.
1922. Forma cardiaca da trypanosomiase americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 14: 5-61.

CHAGAS, E.

1928. Sobre algumas perturbaçõee curiosas do rythmo do coração na trypanosomiase americana. Folha Med., 9:149; 9:187; 9: 201.

CHAGAS, E.

1930. Estudo electro-cardiographico na forma cardiaca da trypanosomiase americana. Tese. Paulo Pongetti & Cia. Rio. 39 pp.

CHAGAS, E.

1930. Estudo electro-cardiographico na forma cardiaca da trypanosomiase americana. Folha Med., 11 (9): 97-99; 11(10): 113-115; 11(14): 159-160.

CHAGAS, E.

1931. Forma cardiaca da Trypanosomiase Americana. O Hospital, 3 (4): 215.

CHAGAS, E.

1932. Novos estudos sobre a forma cardiaca da Trypanosomiase Americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 26 (3): 329-338.

CHAGAS, E.

1935. Sumula dos conhecimentos actuaes sobre a trypanosomiase americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 30 (3): 387-416.

CHAGAS, E.

1936. Infecção experimental do homem pelo *Schizotrypanum cruzi*. Nov. Reun. Soc. Arg. Pat. Reg., 1: 136-159.

CHAGAS, E. & DIAS, E.

1941. A proposito do sinal de Romaña. O Hospital, 19 (2): 185-189.

DIAS, E.

1939. O signal de Romaña e sua influência na evolução dos conhecimentos sobre a molestia de Chagas. Brasil Medico, 53 (42): 965-970.

DIAS, E.

1946. Acerca de 254 casos de doença de Chagas comprovados em Minas Gerais. Brasil Medico, 60(5-6): 41-44.

DIAS, E., LARANJA, F. S. & NOBREGA, G.

1945. Doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 43 (3): 495-582.

DIAS, EZ.

1912. Molestia de Chagas. Estudos hematologicos. Mem Inst. Oswaldo Cruz, 4 (1): 34-61.

DINIZ, O.

1945. Aspecto dermatologico de um chagoma de inoculação. Brasil Medico, 59 (33-34): 297-298.

FARIA, R., VASCONCELOS, R. & ROSENFELD, G.

1948. Contribuição ao estudo da doença de Chagas na 2.ª Região Militar. Rev. Med. Militar, 37 (2): 229-250.

FREITAS JUNIOR, S. V.

1950. Megacolo e megaesofago no Brasil Central. Res. Clin. Cient., 19(11): 411-423.

GASIC, G. L. & CHAIT, P.
1939. Once nuevos casos de enfermedad de Chagas en Chile. Rev. Chil. Hig. Med. Prev., 2: 215-245.

JACOMO, R.
1950. Doença de Chagas em Uberaba. Rev. Med. Cir. Uberaba, 1 (1): 38-45.

LARANJA, F. S.
1949. Evolução dos conhecimentos sôbre a cardiopatia da doença de Chagas. Revisão crítica da literatura. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 47 (3): 605-669.

LARANJA, F. S., DIAS, E. & NOBREGA, G.
1948. O eletrocardiograma na cardiopatia crônica da doença de Chagas. Brasil Medico, 62 (8-9): 51-53.

LARANJA, F. S., DIAS, E. & NOBREGA, G.
1948. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 46 (2): 473-529.

LARANJA, F. S., DIAS, E. & PELLEGRINO, J.
1950. Chagas' heart disease: a cardiological entity. Ier. Congr. Mondial Cardiol. Paris. Communications, pp. 302-303.

LARANJA, F. S., PELLEGRINO, J. & DIAS, E.
1948. Experimental Chagas' heart disease. Third Interam. Cardiol. Congr. Proceedings: 50.

LARCHER, M. & ROMAÑA, C.
1945. La puerta de entrada cutánea en los casos humanos de enfermedad de Chagas. An. Inst. Med. Regional, Tucumán, 1 (2): 165-175.

MANRIQUE, I. S.
1950. Aspecto clínico local de la cardiopatía chagásica crónica. Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop., 7 (1-2): 13-39.

MARTINS, A. V. & Cols.
1939-40. Sobre 25 casos agudos de molestia de Chagas observados em Minas Gerais. Mem. Inst. Ezequiel Dias, 3-4: 5-70.

MARTINS, A. V., VERSIANI, V. & TUPINAMBÁ, A. A.
1945. Estudos sôbre a moléstia de Chagas no Estado de Minas Gerais. II — Sôbre 156 xenodiagnósticos feitos em Belo Horizonte. Arq. Inst. Quimico-Biol. Est. Minas Gerais, 1: 63-70.

MAZZA, S.
Nota sobre el primer centenar de formas agudas de enfermedad de Chagas comprobados en la Republica por la MEPRA. Prensa Med. Argent., 19 agosto.

MAZZA, S.
1937. Nota a proposito de 240 casos de formas agudas de enfermedad de Chagas comprobados en el pais por la MEPRA. 21 julho, Prensa Med. Argent.

MAZZA, S.
1941. Estadística de la enfermedad de Chagas en primer período comprobada por la MEPRA, hasta el 30 de junio de 1940. Prensa Med. Argent., 28 (51).

MAZZA, S.

1949. La enfermedad de Chagas en la Republica Argentina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 47 (1-2): 273-288.

MAZZA, S. & ARGAÑARÁZ, C. A.

1938. Particularidades de un grupo de formas agudas de enfermedad de Chagas en Santiago del Estero. M.E.P.R.A. publ. 36, pp. 3-17.

MAZZA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1941. Caracteres de la curva térmica en primer período de la enfermedad de Chagas. M.E.P.R.A. publ. 58. 72 pp.

MAZZA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1946. Esquizotripanides ulcerosas tardías en enfermedad de Chagas y otras manifestaciones eruptivas. M.E.P.R.A. pub. 71. 42 pp.

MAZZA, S., BASSO, G., BASSO, R., FREIRE, R., HERRERA, J. C., JÖRG, M. E. & MIYARA, S.,

1941. Esquizotripanides. Manifestaciones eruptivas agudas en la enfermedad de Chagas (exantemas y roseolas). M.E.P.R.A. publ. 51. 74 pp.

MAZZA, S., BASSO, G., BASSO, R., FREIRE, R. & MIYARA, S.

1941. Esquizotripánides. IIa nota. Esquizotripanides urticariformes. M.E. P.R.A. publ. 52. 31 pp.

MAZZA, S. & BENÍTEZ, C.

1937. Comprobación de la naturaleza esquizotripanósica y frecuencia de la dacrioadenitis en la enfermedad de Chagas. M.E.P.R.A. publ. 31. 3-31 pp.

MAZZA, S., BRAVERMAN, J. & BRAVERMAN, L. K.

1939. Observaciones de enfermedad de Chagas en Dep. Martínez de Hoz, Chaco. M.E.P.R.A. publ. 40. pp. 91-136.

MAZZA, S. & FREIRE, R. S.

1940. Manifestaciones cutáneas de inoculación metastáticas y hematógenas en la enfermedad de Chagas. M.E.P.R.A. pub. 46. pp. 3-38.

MAZZA, S. & FREIRE, R. S.

1940. Lipochagomas genianos por contiguidad y metastáticos. M.E.P.R.A. publ. 46. pp. 39-57.

MAZZA, S., FREIRE, R. S. & SALICA, P.

1942. Formas meningoencefálicas primitivas y secundarias de enfermedad de Chagas. Considerable gravedad del processo y tratamiento adequado con 7602 (Ac) Bayer. M.E.P.R.A. publi. 60. 35 pp.

MAZZA, S. & JÖRG, M. E.

1936. Consideraciones sobre la patogenia de la enfermedad de Chagas. Los periodos anátomo-clínicos de la tripanosomiasis. Nov. Reun. Soc. Argent. Pat. Reg., 1: 221-231.

MAZZA, S. & JÖRG, M. E.

1940. Periodos anátomo-clínicos de la enfermedad de Chagas. Prensa Med. Argent., 27(46):2.3261-2363.

MAZZA, S. & JÖRG, M. E.

1941. Clasificación anátomo-clínica de las adenopatias de la enfermedad de Chagas. Prensa Med. Argent., 28 (15): 788-791.

MAZZA, S., JÖRG, M. E. & FEIJÓO, E. J.

1938. Primer caso crónico mortal de forma cardíaca de enfermedad de Chagas demostrado en Santiago del Estero. M.E.P.R.A. publ. 38. pp. 3-75.

MAZZA, S. & LOVAGLIO, J.

1940. Primeros casos de enfermedad de Chagas comprobados en Dep. San Carlos (Salta). Uno subagudo, el primero con queratitis chagásica en el país, y otro crónico cardiaco. M.E.P.R.A. pub. 45. pp. 86-96.

MAZZA, S. & MIYARA, S.

1941. Esquizotripanides (IIIa nota). Esquizotripanides eritematosas polimorfas. M.E.P.R.A. publ. 53. 22 pp.

MAZZA, S., MIYARA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1941. Primer quinquenio de la investigación de la MEPRA de la enfermedad de Chagas en la provincia de Mendoza. Imprenta Oficial. Mendoza. 36 pp.

MAZZA, S. & OLLE, R.

1938. Observaciones de formas agudas benignas de enfermedad de Chagas. M.E.P.R.A. publ. 39. pp. 22-35.

MOREIRA, J. V. C.

1925. A forma nervosa da molestia de Chagas. Tese. Rio. 124 pp.

NUNAN, B., REZENDE, C. L. & CANELAS, A.

1952. Contribuição ao tema Doença de Chagas na Infancia. VI Jornada Brasileira de Puericultura e Pediatria, Belo Horizonte.

PELLEGRINO, J. & BORROTCHIN, M.

1948. Inquérito sôbre a doença de Chagas no Hospital da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 46 (2): 419-457.

PIFANO, F. C.

1941. La enfermedad de Chagas en el Estado Yaracuy, Venezuela. Caracas Medico, 8 (19): 1103-1166.

PONDÉ, A.

1948. A cardiopatia crônica da doença de Chagas. Arq. Bras. Cardiol., 1: 27-70.

RAMOS, J., FREITAS, J. L. P. & BORGES, S.

1949. Moléstia de Chagas. Estudo clínico e epidemiológico. Arq. Brasil. Cardiol., 2 (2): 111-162.

REZENDE, C. L.

1952. Megaesôfago. Relato de 2 casos (crianças de 8 e 13 anos). Jornal de Pediatria, 17: 13-31.

REZENDE, C. L., PELLEGRINO, J. & CANELAS, A.

1953. Inquérito sôbre doença de Chagas em crianças internadas em hospitais de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil). O Hospital, 43(2): 241-250.

ROMÁN, J., PALMA, A. S., PIZZI, T. & CEA, O.

1948. Consideraciones clinicas alrededor de 124 casos de Trypanosomiasis Americana descubiertos en la provincia de Coquimbo. Bol. Inst. Bact. Chile, 5 (1): 3-8.

ROMAÑA, C.

1935. Acerca de un síntoma inicial de valor para el diagnostico de forma aguda de la enfermedad de Chagas, la conjunctivitis esquizotripanósica unilateral. M.E.P.R.A. publ. n.º 22.

ROMAÑA, C. & COSSIO, F.

1944. Formas crónicas cardiacas de enfermedad de Chagas. An. Inst. Med. Reg. Tucumán, 1 (1): 9-91.

ROMAÑA, C., COSSIO, F., ALBACA, E., ROJAS, R. & KIRSCHBAUM, M.

1950. Revisión de trastornos electrocardiográficos en un grupo de chagásicos crónicos. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1: 39-40.

ROMAÑA, C. & ROJAS, R. A.

1950. Frecuencia de trastornos electrocardiográficos en un grupo de chagásicos observados agudos. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1: 35-37.

TALICE, R. V., COSTA, R. S., RIAL, B. & OSIMANI, J.

1940. Los 100 primeros casos agudos confirmados de enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana) en el Uruguay. Estudio epidemiológico, clínico y parasitológico. Ed. A. Monteverde. Montevideo. 349 pp.

TALICE, R. V. & RIAL, B.

1940. Forma aguda gastro-intestinal no edematosa de enfermedad de Chagas en un lactente. An. Fac. Med. Montevideo, 25 (12): 1076-1077.

TALICE, R. V., RIAL, B., FERREIRA BERRUTTI, B. & COSTA, R. S.

1940. Forma aguda cardíaca mortal de enfermedad de Chagas con puerta de entrada cutánea en una niña. An. Fac. Med. Montevideo, 25 (12): 1067-1070.

TORRICO, R. A. & TORRICO, J. R.

1951. Caso agudo de enfermedad de Chagas con chagoma de inoculación, diatesis hemorragica, esquizotripanide morbiliforme y sindrome meningo encefálico. An. Lab. Central Bolivia, 3 (2): 32-36.

VALLS, J.

1947. Contribuciones al estudio de la enfermedad de Chagas. VI — Estudio cardio-vascular de enfermos de trypanomiasis americana. Rev. Chil. Med. Hig. Prev., 9 (2): 189-249.

VERSIANI, O.

1944. Diagnóstico diferencial da doença de Chagas. Res. Clin. Cient., 13 (7): 280-286.

VILLELA, E.

1923. Molestia de Chagas. Descripção clinica. 1.ª parte. Folha Med., 4 (5): 33-35.

VILLELA, E.

1923. Molestia de Chagas. Descripção clinica. 2.ª parte. Folha Med., 4 (6): 41-43.

VILLELA, E.
1923. Molestia de Chagas. Descripção clinica. 3.ª parte. Folha Med., 4 (7): 49-52.

VILLELA, E.
1923. Molestia de Chagas. Descripção clinica. 4.ª parte. Folha Med., 4 (8): 57.

VILLELA, E.
1923. Molestia de Chagas. Descripção clinica. 5.ª parte. Folha Med., 4 (9): 65-66.

VILLELA, E.
1930. A occurrencia da molestia de Chagas nos hospitaes de Bello Horizonte e na população de seus arredores. Ann. Fac. Med. Univ. M. Gerais, 1: 1-10.

ANATOMIA PATOLÓGICA

CHAGAS, C.
1916. Processos patojenicos da tripanosomiase americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 8: 7-36.

CROWELL, B. C.
1923. The acute form of American Trypanosomiasis. Notes on its pathology, with autopsy report and observations on Trypanosomiasis cruzi in animals. Am. J. Trop. Med., 3: 425-454.

DÉCOURT, L. V., FREITAS, J. L. P. & ROMEIRO NETO, M.
1946. Alterações cardíacas na moléstia de Chagas. Rev. Hosp. das Clínicas, 1 (1): 32-47.

FERREIRA-BERUTTI, P.
1947. Anatomia patologica de la enfermedad de Chagas. An. Clin. Med. Montevideo, 4: 523-593.

LARANJA, F. S., DIAS, E., DUARTE, E. & PELLEGRINO, J.
1951. Observações clínicas e epidemiológicas sôbre a moléstia de Chagas no oeste de Minas Gerais. O Hospital, 40 (6): 945-988.

LUNDENBERG, K. R.
1938. A fatal case of Chagas' disease occurring in a man 77 years of age. Am. J. Trop. Med., 18:185-196

MAGARINOS TORRES, C.
1917. Estudo do miocardio na moléstia de Chagas (forma aguda). Alterações na fibra muscular cardiaca. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 9: 114-135.

MAGARINOS TORRES, C.
1917. Estudo do myocardio na molestia de Chagas (forma aguda. I — Alterações parenchymatosas. Tese. Fac. Med. Rio. 95 pp.

MAGARINOS TORRES, C.
1923. A tripanosomose americana e a sua anatomia patologica. Folha Med., 4 (4): 25-29.

MAGARINOS TORRES, C.
1929. Patogenia de la miocarditis crónica en la enfermedad de Chagas. Quinta Reun. Soc. Arg. Pat. Reg., 2: 902-916.

MAGARINOS TORRES, C.

1941. Sôbre a anatomia patologica da doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 36:391-404.

MAGARINOS TORRES, C. & DUARTE, E.

1948. Miocardite na forma aguda da doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 46 (4): 759-793.

MAGARINOS TORRES, C. & DUARTE, E.

1950. Lesões do feixe de His-Tawara na cardiopatia chagásica aguda e crônica. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1:23-25.

MAGARINOS TORRES, C. & VILLAÇA, J.

1919. Encefalite e mielite causadas por um tripanosomo (*T. cruzi*). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 11: 80-89.

MAZZA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1937. Primer caso mortal de forma aguda de enfermedad de Chagas comprobado en Mendoza. M.E.P.R.A. publ. n.º 33, pp. 3-32.

MAZZA, S., BASSO, G., BASSO, R. & JÖRG, M. E.

1939. Primer caso mortal de forma crónica cardíaca de enfermedad de Chagas comprobado en Mendoza. M.E.P.R.A. publ. 42, pp. 3-97.

MAZZA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1942. Enfermedad de Chagas en primer período diagnosticada exclusivamente por biópsia de ganglio linfático con hallazgo de parásitos leishmaniformes. M.E.P.R.A. publ. 63. 48 pp.

MAZZA, S., JÖRG, M. E. & FEIJÓO, C.

1938. Primer caso crónico mortal de forma cardíaca de enfermedad de Chagas comprobado en Santiago del Estero. M.E.P.R.A. publ 38. pp. 3-75.

MAZZA, S. & JÖRG, M. E.

1939. Diferencias entre anatomía patológica de carditis reumática y carditis de enfermedad de Chagas. M.E.P.R.A. publ. 42. pp. 74-97.

MAZZA, S. & JÖRG, M. E.

1941. Anatomía patológica de casos mortales de enfermedad de Chagas. Prensa Med. Argent., 28 (46).

MAZZA, S. & MIYARA, S.

1940. Enfermedad de Chagas aguda con chagoma de inoculación y esquizotripanide polimorfa comprobado por histopatologia de biopsia de la lesión cutánea. M.E.P.R.A. publ. 46. pp. 85-104.

MAZZA, S., MIYARA, S. & JÖRG, M. E.

1944. Exámenes histológicos de conjuntivas en primer período de enfermedad de Chagas. M.E.P.R.A. publ. 68. 80 pp.

MAZZA, S. & RENDON, E. C.

1941. Casos de primer período de enfermedad de Chagas, los más australes reconocidos en América. M.E.P.R.A. publ. 57. 19 pp.

MAZZA, S., ROMAÑA, C. & PARMA, B.

1935. Un nuevo caso mortal de enfermedad de Chagas observado en el norte santafecino. M.E.P.R.A. publ. 21. pp. 3-18.

PINHEIRO CHAGAS, C.

1920. Lesões hepaticas na molestia de Chagas. Tese. Fac. Med. Belo Horizonte. pp. 53-96.

VIANNA, G.

1911. Contribuição para o estudo da anatomia patolojica da "Molestia de Carlos Chagas". Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 3 (2): 276-294.

TALICE, R. V., RIAL, B., FERREIRA-BERUTTI, P. & COSTA, R. S.

1941. Forma aguda cardíaca mortal de enfermedad de Chagas con puerta de entrada cutánea en una niña. Estudio clinico y anatomopatológico. An. Fac. Med. Montevideo, 25 (12): 5-17.

VILLELA, E. & VILLELA, E.

1932. Elementos do sistema nervoso central parasitados pelo *Trypanosoma cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 26 (1): 77-81.

DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO

BONACCI, H.

1934. Nuevo medio de cultivo para el *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909. Rev. Bacteriol., 6: 242-247.

BRUMPT, E.

1914. O xenodiagnóstico. Applicação ao diagnostico de algumas infecções parazitarias e em particular à trypanosomose de Chagas. An. Paul. Med. Cir., 3: 97-102.

DAVIS, D. J.

1943. An improved antigen for complement fixation in American trypanosomiasis. Publ. Health Rep., 58: 775-777.

DIAS, E.

1940. Tecnica do xenodiagnostico na molestia de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 35: 335-342.

ERRECART, L. M.

1945. La investigación de *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* por el método de la "gota espessa". Una nueva técnica. An. Fac. Med. Montevideo, 30(5-8): 527-542.

FREITAS, J. L. P.

1947. Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por processos de laboratório. Tese. S. Paulo. 160 pp.

FREITAS, J. L. P.

1950. Observações sôbre o tempo ótimo para exame de triatomídeos empregados em xenodiagnóstico. Folia Clin. et Biol., 16 (2): 180-185.

FREITAS, J. L. P.

1951. Reação de fixação do complemento para diagnóstico da moléstia de Chagas pela técnica quantitativa. Arq. Hig. e Saude Publica. S. Paulo, 16 (48): 55-94.

FREITAS, J. L. P. & ALMEIDA, J. O.

1949. Nova técnica de fixação do complemento para moléstia de Chagas. O Hospital, 35 (6): 787-800.

GUERREIRO, C. & MACHADO, A.

1913. Da reacção de Bordet e Gengou na molestia de Carlos Chagas como elemento diagnostico. Brasil Medico, 27: 225-226.

KELSER, R. A.

1936. A complement-fixation test for Chagas' disease employing an artificial culture antigen. Am. J. Trop. Med., 16: 405-416.

MAZZA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1942. Enfermedad de Chagas en primer período diagnosticada exclusivamente por biopsia de ganglio linfático con hallazgo de parásitos leishmaniformes. M.E.P.R.A. publ. 63. pp. 3-48.

MAZZA, S., MIYARA, S. & JÖRG, M. E.

1945. Naturaleza de la reacción conjuntival en primer período de la enfermedad de Chagas. Enfermos comprobados exclusivamente por demostración de leishmanias de *S. cruzi* en biopsias conjuntivales. M.E.P.R.A. publ. 69. pp. 3-152.

MUNIZ, J.

1947. Do valor da reação de precipitina no diagnóstico das formas agudas e subagudas da doença de Chagas (Trypanosomiasis americana). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 45 (3): 537-550.

MUNIZ, J.

1950. Comportamento de hematias sensibilizadas com a fração polissacarídeo do *S. cruzi* quando em presença de sôros específicos. "Hemólise condicionada", um caso particular dentro das reações de imunidade. O Hospital, 37 (2): 199-205.

MUNIZ, J.

1950. On the value of "Conditioned Haemolysis" for the diagnosis of American Trypanosomiasis. O Hospital, 37 (5): 685-691.

MUNIZ, J. & FREITAS, G.

1944. Contribuição para o diagnostico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. I — Estudo comparativo entre as reações de aglutinação e de fixação do complemento. Mem. Inst. Oswaldo Cru, 41 (2): 303-333.

MUNIZ, J. & FREITAS, G.

1944. Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. II — Isolamento de polissacarídeos de *Schizotrypanum cruzi* e de outros Tripanosomideos, seu comportamento nas reações de precipitação, de fixação do complemento e de hipersensibilidade. Rev. Brasil. Biol., 4: 421-438.

PELLEGRINO, J.

1953. Técnica para a reação de precipitina no diagnóstico da doença de Chagas com sangue colhido na polpa digital. O Hospital, 43(4): 437-441.

PELLEGRINO, J. & BRENER, Z.

1952. A reação de fixação do complemento com antígeno de formas de cultura do *Schizotrypanum cruzi* na leishmaniose tegumentar americana. O Hospital, 42(6):871-890.

PELLEGRINO, J. & BRENER, Z.

1952. A reação de precipitina no diagnóstico da doença de Chagas. Em publ.

ROMAÑA, C. & DIAS, E.

1942. Reação de fixação do complemento na Doença de Chagas com antígeno alcoólico de cultura do *Schizotrypanum cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37: 1-10.

TERAPÊUTICA

AGOSÍN, M., CHRISTEN, R., JARPA, A. & ATIAS, W.

1951. Ensayos de quimioterapia en la enfermedad de Chagas experimental. V — Terramicina. Bol. Inf. Paras. Chil., 6(1): 5-6.

VON BRAND, T. & JOHNSON, E. M.

1947. A comparative study of the effect of cyanide on the respiration of some Trypanosomidae. Jour. Cell. & Comp. Physiol., 29 (1): 33-49.

VON BRAND, T., JOHNSON, E. M. & REES, C. W.

1946. Observations on the respiration of *Trypanosoma cruzi* in culture. Jour. Gen. Physiol., 30 (2): 163-175.

VON BRAND, T. & TOBIE, E. J.

1948. Further observations on the influence of cyanide on some Trypanosomes. Jour. Cell. & Comp. Physiol., 31 (1): 49-68.

BROWNING, C. H., CALVER, K. M., LECKIE, M. W. & WALLS, L. P.

1946. Phenanthridine compounds as chemotherapeutic agents in experimental *T. cruzi* infections. Nature, 157: 263- 264.

FEIJÓO, E. J. C.

1951. Tratamiento de la enfermedad de Chagas. Tucumán, 61 pp.

FREITAS, J. L. P.

1952. O estado atual do tratamento da moléstia de Chagas. Cad. de Terap. Labor., 2 (1): 1-4.

GALLIARD, H. & BOUTET, R.

1951. Modifications de l'évolution et de la virulence d'une souche de *Trypanosoma cruzi* sous l'action de divers produits chimiothérapiques et antibiotiques. Ann. Paras. Hum. et Comp., 26 (1-2): 5-18.

GOBLE, F. C.

1949. Chemotherapeutic activity of certain 8-aminoquinolines, particularly pentaquine in experimental Chagas' disease. J. Parasitol., 35 (3): 375-378.

LARANJA, F. S., DIAS, E. & NOBREGA, G.

1948. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 46 (2): 473-529.

MAZZA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1942. Ensayos terapeuticos del producto 9736 (As) Bayer y de sua acción comparada con el 7602 (Ac) Bayer en la enfermedad de Chagas. M.E.P.R.A. publ. 61. pp. 3-76.

MAZZA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1945. Contribución para la terapeutica de la enfermedad de Chagas. Ultimos ensayos quimioterápicos: M 3024 I.C.I.. Aplicación de penicilina. M.E.P.R.A. publ. 70. pp. 3-81.

MAZZA, S., COSSIO, R. & ZUCCARDI, E.

1937. Primer caso agudo grave de enfermedad de Chagas comprobado en Tucumán y su tratamiento con Bayer 7602 (Ac). M.E.P.R.A. publ. 32. pp. 3-18.

MAZZA, S., FREIRE, R. S. & SALICA, P. N.

1942. Formas meningoencefálicas primitivas y secundarias de enfermedad de Chagas. Considerable gravedad del proceso y tratamiento con 7602 (Ac) Bayer. M.E.P.R.A. publ. 60. pp. 3-35.

PROFILAXIA

CAICEDO, N. M.

1950. Primeros resultados en la campaña anti-triatoma con el Gammexano en Venezuela. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas, Tucumán, 1: 63-64.

DIAS, E. & PELLEGRINO, J.

1948. Alguns ensaios com o "Gammexane" no combate aos transmissores da doença de Chagas. Brasil Medico, 62: 185-191.

DIAS, E., PINTO, O., PELLEGRINO, J. & CASTRO, A.

1952. Ensaio experimental de luta contra os triatomídeos por meio de inseticidas de ação residual. Rev. Brasil, Malariol. D. Trop., 4(1): 22-46.

FREITAS, J. L. P.

1950. Resultado da aplicação de "Rhodiatox" contra triatomídeos. Observações sôbre o poder residual. Rev. Paul. Med., 26: 235-244.

NEGHME, A.

1950. Algunos datos sobre profilaxia de la enfermedad de Chagas en Chile. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas. Tucumán, 1: 65-66.

OSIMANI, J. J.

1950. La profilaxia de la enfermedad de Chagas en el Uruguay por medio del gamexano. Bol. Ofic. Sanit. Panam., 29: 1125.

PELLEGRINO, J.

1949. Transmissão da doença de Chagas pela transfusão de sangue. Primeiras comprovações sorológicas em doadores e em candidatos a doadores de sangue. Rev. Brasil. Med., 6 (5): 297-301.

PELLEGRINO, J. & BRENER, Z.

1951. Profilaxia de um foco de doença de Chagas nas proximidades de Belo Horizonte (Cidade Industrial). Rev. Assoc. Med. M. Gerais, 2 (2): 233-250.

PINOTTI, M.

1950. Campanha contra a molestia de Chagas. Folha Medica, 31: 129-132.

PINOTTI, M.

1950. Problema da malária. Ciência Médica, 19: 205-234.

PINOTTI, M.

1951. Malária e doença de Chagas. Dois grandes problemas nacionais de saúde em via de solução. Rev. Brasil. Med., 8 (2): 97-105.

ROMAÑA, C. & ABALOS, J. W.

1948. Acción del "Gammexane" sobre los triatomídeos. "Control" domiciliario. An. Inst. Med. Reg. Tucumán, 2: 95-106.

ROMAÑA, C., ALVARADO, C. A., TULA, A. & ABALOS, J. W.

1950. Campaña de "Gametización" antivinchuca. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. Chagas. Tucumán, 1:57-62.

A doença de Chagas em Minas Gerais

Esbôço crítico dos trabalhos publicados até 1951 (1)

J. Pellegrino (2)

"O combate à tripanosomiase americana, representa, em nosso país, um dos problemas sanitários de maior relevância, ligado aos mais altos interêsses econômicos e ao aperfeiçoamento progressivo da nossa raça, nas zonas rurais."

C. CHAGAS, 1918.

I — Introdução
II — Trabalhos realizados em Lassance
III — Trabalhos realizados em Bambuí
IV — Trabalhos realizados em Belo Horizonte
V — Trabalhos realizados em outras zonas do Estado
VI — Profilaxia da doença de Chagas em larga escala
VII — Resumo
VIII — Summary
IX — Bibliografia

I — INTRODUÇÃO

A análise bibliográfica dos trabalhos que têm sido publicados nestes últimos anos sôbre a doença de Chagas, não sòmente em Minas Gerais, como também, de um modo geral, em outros Estados do Brasil e países da América atingidos pela endemia esquizotripanósica, revela o notável impulso que tomaram, recentemente, os estudos sôbre êste importante problema de Saúde Pública.

É deveras surpreendente o interêsse agora despartado no seio da classe médica por esta doença e a facilidade com que têm sido assimiladas as mais recentes contribuições e os novos conceitos relacionados com

---

(1) Relatório oficial apresentado ao 1.º Congresso da Associação Médica de Minas Gerais, realizado em Belo Horizonte (30 de setembro a 7 de outubro de 1951). Trabalho do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz, em Belo Horizonte, e do Instituto de Biologia da Faculdade de Filosofia da Universidade de Minas Gerais.

(2) Sanitarista da Secretaria de Saúde e Assistência de Minas Gerais, em comissão no Instituto Oswaldo Cruz.

a evolução dos nossos conhecimentos sôbre a mesma. Em grande número de congressos médicos realizados ùltimamente, sempre quando são focalizados problemas de importância médico-social, figura, em destaque, a esquizotripanose. Sòmente êste ano, em cinco diferentes reuniões científicas realizadas no Brasil, foi esta entidade mórbida incluída entre os temas oficiais.

Depois da individualização definitiva da cardiopatia chagásica crônica em bases clínicas, anatomo-patológicas, eletrocardiográficas e experimentais, estabelecida desde 1945 pelos trabalhos realizados em Bambuí, por pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz, novos rumos tomaram os estudos sôbre a esquizotripanose que até então estavam particularmente orientados na investigação dos casos de infecção recente, nos quais era quase sempre fácil o encontro do agente causal no sangue circulante e a suspeita clínica, na maioria das vêzes, podia ser despertada pela presença de sinais físicos evidentes: o edema bipalpebral unilateral, os chagomas de inoculação e mesmo o edema generalizado sem porta de entrada aparente da infecção. A tendência atual, acha-se especialmente dirigida no estudo dos casos de infecção crônica, não só porque constituem, em relação aos casos de infecção recente, a imensa maioria, mas, principalmente, porque são observadas, nesta fase da doença, com grande freqüência, manifestações cardíacas que atingem indivíduos em idades pouco avançadas e que são responsáveis por grande número de mortes súbitas ou por insuficiência cardíaca nas zonas de endemia rural e pela incapacidade total ou relativa para o trabalho de grande percentagem da população que vive em extensas áreas infestadas por triatomíneos. No estado atual dos nossos conhecimentos, a doença de Chagas é considerada como uma infecção de acentuado cardiotropismo, e a sua importância médico-social é avaliada principalmente pela freqüência com que determina alterações cardíacas.

Para o desenvolvimento dos estudos realizados sôbre a cardiopatia chagásica crônica e para o notável impulso das investigações que ora se ampliam e se multiplicam, relacionadas com os diversos aspectos clínicos e epidemiológicos da endemia esquizotripanósica, contribuiu decisivamente a experiência adquirida com o emprêgo da reação de fixação do complemento feita com antígenos de cultura do *Schizotrypanum cruzi*, como meio laboratorial de comprovação dos casos de infecção crônica. Êste método imuno-biológico de diagnóstico, pelas suas características de fácil realização, de grande especificidade e de acentuada sensibilidade, fêz com que se estendessem as investigações clínicas, eletrocardiográficas e radiológicas a grandes grupos de indivíduos com cardiopatia chagásica crônica e tornou possível a realização de inquéritos em larga escala em populações não selecionadas de zonas endêmicas.

Acham-se ainda pouco desenvolvidas, no Estado de Minas, as investigações sôbre a incidência da doença de Chagas nas zonas infestadas por triatomíneos e as pesquisas sôbre a freqüência com que ocorrem, nos habitantes destas zonas, as alterações cardíacas produzidas pela esquizotripanose. Inquéritos realizados recentemente, em bases clínico-sorológicas, em grupos não selecionados de indivíduos moradores em

zonas endêmicas e em hospitais para onde afluem doentes procedentes de várias regiões do Estado, têm proporcionado resultados verdadeiramente alarmantes. A esquizotripanose pôde ser evidenciada em 39,1% de um grupo de trabalhadores e familiares da Rêde Mineira de Viação, tomados sem seleção, num trecho da Estrada situado no oeste de Minas, entre as estações de Iguatama e Campos Altos .Na Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, 20,4% dos internados apresentaram provas laboratoriais positivas para a doença de Chagas. Nestes dois inquéritos, a infecção esquizotripanósica constituiu, nos grupos observados, o principal fator etiológico de cardiopatia e, de um modo geral, como foi verificado em Bambuí, as alterações cardíacas estavam presentes em cêrca da metade dos indivíduos com provas laboratoriais positivas.

Depois que os estudos sôbre a doença de Chagas se nortearam no sentido da pesquisa de casos crônicos, a casuística desta entidade nosológica subiu, nestes últimos anos, assustadoramente. Entretanto, continúa sendo grande a desproporção entre os dados fornecidos pelo levantamento epidemiológico dos transmissores da esquizotripanose no Estado, e aqueles relativos à existência de casos autóctones de doença de Chagas e da incidência desta infecção nas populações das zonas onde foram encontrados triatomíneos. Sabe-se que pelo menos em 233 municípios de Minas foi já assinalada a presença de transmissores, e que em 156 estavam os mesmos infectados pelo *S. cruzi*. E, na maioria dos municípios do Estado, mesmo naqueles onde é alta a percentagem de infecção dos transmissores domiciliares, a doença não é ainda conhecida e nem ao menos suspeitada. A casuística da esquizotripanose, atualmente existente — perto de 3.000 casos registrados — é absolutamente insuficiente para se fazer uma estimativa, mesmo superficial, da distribuição geográfica e da incidência da doença em Minas, pois, sòmente no Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz, em Bambuí, foram diagnosticados cêrca de 2.000 casos.

Uma nova e promissora fase vem se desenvolvendo, nestes dois últimos anos, depois da verificação que certos inseticidas de ação residual possuem acentuado poder letal para os transmissores da esquizotripanose e podem ser utilizados, com êxito, em campanhas de profilaxia. O Serviço Nacional de Malária, em colaboração com o Instituto Oswaldo Cruz, e em convênio assinado recentemente com o Govêrno de Minas, iniciou, em larga escala, uma série de trabalhos de profilaxia visando a proteção das áreas do Estado atingidas pela endemia chagásica.

*
* *

A inclusão da doença de Chagas, no temário oficial do 1.º Congresso da Associação Médica de Minas Gerais, por feliz iniciativa do Exmo. Sr. Secretário de Saúde e Assistência, Dr. Mário Hugo Ladeira, bem traduz o vivo interêsse que os poderes públicos e o corpo médico do Estado têm pelo estudo do assunto, visando encontrar solução para um dos problemas sanitários da maior relevância que afeta tão profundamente a saúde e a economia do Estado.

Na certeza de que muitos dos médicos de Minas resolverão prestar sua valiosa e imprescindível colaboração ao estudo do magno problema da extensão desta endemia no Estado, resolvemos fazer um esbôço crítico dos trabalhos relacionados com a doença de Chagas em Minas e publicados até a presente data, nêle incluindo as indicações bibliográficas que conseguimos colhêr do modo mais completo possível, com o fim de divulgar o que foi feito e de facilitar o acesso às mesmas fontes.

Para facilidade de exposição e, de um certo modo, caracterizando cronològicamente diferentes etapas por que tem passado o estudo da doença de Chagas em Minas, os trabalhos publicados sôbre êste assunto, compreendendo tôdas as investigações aí desenvolvidas e as contribuições que com material procedente do Estado se realizaram fora dêle, foram divididos em cinco grandes grupos:

1.º) — Trabalhos realizados em Lassance.
2.º) — Trabalhos realizados em Bambuí.
3.º) — Trabalhos realizados em Belo Horizonte.
4.º) — Trabalhos realizados em outras zonas do Estado.
5.º) — Profilaxia da doença de Chagas em larga escala.

II — TRABALHOS REALIZADOS EM LASSANCE

Os trabalhos realizados em Lassance cobrem um longo período de quase 30 anos, período êsse que vai desde 1909, data da descoberta de um novo tripanosoma e da descrição de uma nova entidade mórbida do homem feita por Chagas (1909, 1909a), até 1936, data da publicação de trabalhos de pesquisadores de Manguinhos, apresentados no ano anterior à Nona Reunião da Sociedade Argentina de Patologia Regional (E. Chagas 1936, 1936a, 1936b; Dias 1936, 1936a; Villela & Dias 1936), convocada em homenagem à memória do grande tropicalista brasileiro Carlos Chagas. Fora dêste período, sòmente em dois artigos, um de Dias (1938) e outro de Romaña & Dias (1942), encontramos referências a doentes de Lassance.

Pràticamente, as pesquisas desenvolvidas em Lassance e os trabalhos realizados com o abundante material de que lá foi canalizado para Manguinhos — investigações condensadas em uma centena de publicações — foram feitos por Chagas e colaboradores durante a vida do descobridor da esquizotripanose. Depois de sua morte, ocorrida em 1934, pouco ou quase nada foi feito em Lassance. De há muito, o pequeno Hospital onde Chagas realizou a maior parte de suas pesquisas e onde foi escrita a mais bela página da medicina tropical sul-americana, acha-se transformado em depósito da Central do Brasil.

"O curso dos trabalhos de Chagas e que o levaram ao descobrimento da Trypanosomiase americana é absolutamente extraordinário. Um só investigador, dispondo de meios e recursos extremamente precários à realização da pesquiza, conseguiu, pelo esfôrço dedutivo e a aplicação do methodo scientifico, esclarecer problemas que se relacionavam ao mesmo tempo com a etiologia, a anatomia pathologica e as feições clinicas e epidemiologicas de uma doença. Pode-se affirmar que a doen-

ça de Chagas foi estudada e esclarecida em seus aspectos essenciaes, por um só homem, o seu descobridor" (E. Chagas, 1936a).

Parece hoje estranho que as numerosas investigações realizadas sôbre a doença de Chagas e amplamente divulgadas durante todo o longo período de Lassance não tivessem despertado o devido interêsse de outros estudiosos dos problemas médicos de Minas e das Autoridades Sanitárias responsáveis pela Saúde Pública no Estado. De 1909 até 1936, em todo o Estado de Minas, exceto Lassance, além do trabalho realizado na capital do Estado, em 1930, por Villela (1930), colaborador dos mais destacados de Carlos Chagas e então professor de Patologia Geral na Faculdade de Medicina de Belo Horizonte, sòmente conseguimos encontrar referências aos transmissores da doença de Chagas e a casos humanos de esquizotripanose nas estrelinhas de relatórios de excursões científicas e em artigos publicados sôbre outros assuntos (Campos 1913; Neiva, 1914; Lutz & Machado, 1915; Neiva & Pinto, 1923; Ez. Dias, Libanio & Lisbôa, 1924; Rodrigues, 1930; Viana, 1930; Patto, 1931). No Regulamento de Saúde Pública do Estado, publicado em 1928, na parte referente à profilaxia específica das doenças transmissíveis, existem 10 itens sôbre doença de Chagas, os quais, ao que saibamos, nunca foram aplicados. E, durante êstes 27 anos, Chagas e pesquisadores que sob sua orientação trabalharam em Lassance e Manguinhos, descreveram a nova doença nas suas diversas modalidades clínicas, estudaram minuciosamente o seu agente etiológico, a biologia dos transmissores, realizaram investigações experimentais, estudos sôbre a patogenia e anatomia patológica, desenvolveram métodos para o diagnóstico, analizaram o papel dos reservatórios domiciliares e silvestres e mostraram repetidamente a importância social desta endemia que "não encontra na nosologia outra entidade morbida que lhe exceda em consequencias funestas" (Chagas, 1912a). Enfim, nestes 27 anos foi escrito todo um novo capítulo da patologia tropical e tão bem e tão amplamente foi êle abordado que valeu, a Carlos Chagas, o prêmio Schaudin, como homenagem do Instituto de Doenças Tropicais de Hamburgo.

Não cabe aqui enumerar e comentar, isoladamente, cada um dos trabalhos publicados durante o período de Lassance. Isto será objeto de um outro trabalho. Mencionaremos, resumidamente, apenas as principais contribuições. Da cardiopatia chagásica crônica, que, atualmente, depois de retomada e ampliada pelo grupo de Bambuí, está despertando o interêsse de grande número de pesquisadores nacionais e de países atingidos pela endemia esquizotripanósica, faremos referência mais extensa.

I) — A descrição minuciosa do agente etiológico da nova entidade mórbida do homem, os estudos da sua morfologia e ciclo evolutivo no inseto transmissor e no hospedeiro vertebrado; a caracterização da doença nos seus aspectos clínicos gerais; a verificação da susceptibilidade dos animais de laboratório à infecção pelo *S. cruzi* — acham-se amplamente desenvolvidos nos trabalhos de Chagas (1909, 1909a, 1909b, 1909c, 1909d, 1909e, 1910b, 1911, 1911b, 1920b, 1920c, 1918, 1922, 1925).

O histórico da descoberta da esquizotripanose, assim se encontra resumido no 1.º volume do Manual de Doenças Tropicais, de Carlos e Evandro Chagas (1935):

"Commissionado para realizar campanha anti-malarica no prolongamento da Estrada de Ferro Central do Brasil, no Norte do Estado de Minas Geraes, teve Carlos Chagas a apportunidade de deparar ahi com a existência de syndromes clinicas varias que de modo algum se enquadravam nos aspectos nosologicos das doenças até então conhecidas".

"Ao mesmo tempo observou a infestação de domicilios humanos por um arthropodo hematophago (barbeiro), tambem desconhecido. Examinando o tubo digestivo de exemplares desse insecto, que se alimentava do sangue humano e de sangue de animaes domesticos, encontrou Chagas protozoarios com caracteristicas morphologicas de crithidias".

"Formulou a hypotese de que taes parazitos pudessem representar phase evolutiva de um protozoario parazito dos animaes ou mesmo do homem".

"Realizando, no Instituto Oswaldo Cruz, a alimentação desses hematophagos em macacos do genero *Callitrix*, especie *penicillata*, poude, de facto, após alguns dias (cêrca de 15) observar a infecção desses vertebrados por um trypanosoma de caracteres morphologicos proprios e até então não conhecido".

"Voltando ao interior encetou a pesquiza systematica de flagellados no sangue peripherico do homem e dos animaes domesticos. E de facto, algum tempo após, conseguiu encontrar trypanosoma identico ao observado no macaco, em animaes domesticos (gatos). Observando, mais tarde, uma creança em estado febril, com signaes agudos de infecção, deparou no sangue peripherico com o mesmo flagellado, a que denominou "Trypanosoma cruzi", em homenagem ao Mestre (9 de abril de 1909)".

"Estava, assim, verificada a existencia da infecção do homem e dos animaes domesticos por um trypanosoma vehiculado, seguramente, pelo arthopodo hematophago encontrado nos domicilios".

II) — É curioso que na literatura nacional, antes dos trabalhos de Chagas, não se encontra, ao que saibamos, nenhuma referência a reduvídeos hematófagos, insetos tão abundantes e tão amplamente difundidos por todo o território brasileiro e já conhecidos, há cêrca de um século, através de publicações de autores estrangeiros. Nos trabalhos de Chagas, pela primeira vez são referidas informações seguras e minuciosas sôbre os hábitos de um hemíptero hematófago por êle observado em Lassance, "denominado *barbeiro* pelos naturais da zona, que habita os domicilios humanos, atacando o homem á noite, depois de apagadas as luzes, occultando-se, durante o dia, nas frestas das paredes, nas coberturas das cazas, em todos os esconderijos, enfim, onde possa encontrar guarida. De regra, é o hematofago visto em maior abundancia nas habitações pobres, nas choupanas de paredes não rebocadas e cobertas de capim. Alí a reprodução delle é consideravel; são encontra-

dos em numero imenso nas frestas das paredes e constituem condição anti-vital das mais notaveis, pela dificuldade trazida ao repouzo do homem" (CHAGAS, 1909e). Mostrou CHAGAS que "o facto da contaminação de choupanas recem-construidas e em situação isolada no interior de florestas, em valles afastados, leva-nos a admitir como provavel a existencia do hematophago no meio exterior e em estado de diffusão extrema, como qualquer hemiptero. Domiciliados, porém, encontram-se em condições de vida das mais favoraveis e por isso se multiplicam, concentrando-se e tornando-se definitivamente domiciliares, através de gerações successivas" (CHAGAS, 1910b). Acentua que "os conorrhinus que se tenham tornado infectantes conservam longamente essas propriedades", podendo transmitir a esquizotripanose, e mostra "ainda o perigo de ser essa entidade morbida um dia, uma vez estabelecidas as vias de comunicação, levada para as grandes cidades de outras zonas do paiz" (CHAGAS, 1910b).

A biologia do *Panstrongylus megistus,* espécie mais comum em Lassance, e principal transmissor da doença de Chagas no Estado de Minas, foi estudada detalhadamente por NEIVA (1910).

Em 1912 CHAGAS admitiu a possibilidade do *Triatoma infestans* e do *Triatoma sordida* transmitirem a esquizotripanose (CHAGAS, 1912) e no ano seguinte NEIVA (1913) mostrou que o *T. sordida* pode se infectar pelo *S. cruzi*.

Os hábitos do *Panstrongylus geniculatus* que vive "em buracos do solo que são residencias habituais de tatús" foram descritos por CHAGAS, que também encontrou exemplares desta espécie, vivendo em seu habitat natural, infectados pelo *S. cruzi* (CHAGAS, 1912).

O *Triatoma chagasi,* descrito como nova espécie por BRUMPT & GOMES (1914), baseados em um exemplar "femea capturado em uma loca de mocó (*Kerodon rupestris*) em região deshabitada da Serra do Cabral, a cerca de 12 kilometros de Lassance" deve ser considerado como sinônimo de *T. vitticeps*.

O *Rhodnius domesticus,* do qual foram referidos por NEIVA & PINTO (1923) dois exemplares procedentes de Lassance, não pode ser incluído entre os triatomíneos de Minas, pois como explicam LENT & MARTINS (1940), que tiveram a oportunidade de rever êsse material, houve engano ou troca de exemplares.

A primeira referência ao *Psammolestes coreodes* no Brasil foi feita por COSTA LIMA (1934) com exemplar capturado em Lassance. LENT (1935) publicou observações minuciosas sôbre a biologia desta espécie de triatomíneo.

III) — Os estudos sôbre as manifestações clínicas da esquizotripanose foram objeto de numerosas publicações que, de um modo geral, se nortearam pelo esquema proposto por CHAGAS em 1910 (CHAGAS, 1910b) para a sistematização das formas clínicas da nova doença. Compreende êste esquema, dois grandes grupos: a) infecção aguda, na qual distingue os casos graves, com manifestações meningo-encefálicas, e os casos benígnos. b) infecção crônica, compreendendo: 1 — forma pseudo-mixedematosa, 2 — forma mixedematosa, 3 — forma

nervosa, 4 — forma cardíaca e 5 — forma crônica com manifestações atuais sub-agudas. A doença foi encarada por diversos pesquisadores sob os mais variados aspectos, e procurou-se ver na multiplicidade da localização das formas de desenvolvimento do agente causal, a explicação etiopatogênica das multiformes manifestações clínicas apresentadas pelos habitantes da zona de Lassance. (Chagas, 1909a, 1909b, 1909c, 1909d, 1909e, 1910, 1910a, 1910b, 1910c, 1910d, 1911, 1911b, 1912a, 1913, 1916, 1916b, 1920, 1920c, 1925, 1925a, 1926, 1928, 1928a; Chagas & Villela, 1922, 1923; Villela, 1923, 1923a, 1923b, 1923c, 1923d; E. Chagas, 1928, 1930, 1930a, 1931, 1932; Villela & cols., 1929; Guerreiro, 1912; Villaça, 1913; Chaves, 1915; Torres, 1923; Moreira, 1925; Austregesilo, 1927; Azevedo, 1933).

Das manifestações clínicas incluídas pelos pesquisadores que investigaram com material de Lassance, nas diversas formas crônicas da doença, algumas foram afastadas, por estudos posteriores, e atribuídas a outros fatôres mórbidos também presentes na zona onde foi descoberta a esquizotripanose. Outras manifestações não foram, até o presente, devidamente reinvestigadas, como por exemplo a forma nervosa. De um modo geral, pode-se dizer que das formas crônicas, a cardíaca foi a única que mereceu, por parte dos continuadores de Chagas, estudos bem conduzidos e também a única integral e amplamente confirmada.

O número de casos agudos e crônicos de doença de Chagas observados em Lassance foi relativamente grande, apesar de que, nessa localidade e vizinhanças, nunca foi levado a cabo nenhum inquérito que visasse enriquecer a casuística. Os casos foram referidos, esparsos ou agrupados, em numerosos trabalhos de ordem clínica ou laboratorial (Chagas, 1909a, 1909b, 1909c, 1909d, 1909e, 1910a, 1910b, 1910c, 1910d, 1911, 1911a, 1911b, 1913, 1916, 1916a, 1922, 1928, 1928a; Vianna, 1911; Ez. Dias, 1912; Torres, 1915, 1917, 1917a, 1923, 1928, 1930; P. Chagas, 1920; Chagas & Villela, 1922, 1923; Villela & Bicalho, 1923; Crowell, 1923; Moreira, 1925; Lacorte, 1926; E. Chagas, 1928, 1930, 1930a, 1931, 1932; Azevedo, 1933; Dias, 1934, 1935, 1936a, 1938; Romaña & Dias, 1942). Entretanto, o modo pelo qual foram referidos êsses casos, torna difícil uma avaliação numérica aproximada da casuística de Lasasnce. Os mesmos casos serviram, repetidas vêzes, como material de observação para diversos autores e nem sempre foram devidamente individualizados. Pensamos não estar longe da verdade se dissermos que cêrca de 50 casos agudos foram diagnosticados em Lassance e que a descrição clínica das formas crônicas se baseou na observação de algumas centenas de casos.

IV) — Desde os primeiros trabalhos publicados em 1910 sôbre "o aspecto clinico geral da nova entidade morbida produzida pelo *Schizotrypanum cruzi*" poz Chagas em destaque as manifestações cardíacas observadas na fase crônica da doença, cuja freqüência, nos habitantes da região onde realizava seus estudos, era "impressionante e seguramente nunca observada fóra daquella condição epidemiológica" (Chagas, 1910d). Nos trabalhos sucessivos, a forma cardíaca foi tão exausti-

vamente investigada por CHAGAS, que, pode-se afirmar, em 1912 já haviam sido traçados, numa obra verdadeiramente genial, todos os fundamentos dêste importante capítulo da esquizotripanose que, sòmente muito mais tarde, depois de confirmado e ampliado, viria constituir a principal característica para a avaliação da importância médico-social da doença de CHAGAS.

"Das propriedades fundamentaes do musculo cardiaco a que mais vezes se mostra perturbada é sem duvida a excitabilidade, expressando-se de regra a anomalia funcional pelo rythmo geminado (couplé), no qual a evidencia de extrasystoles bem se salienta na existencia constante de pausas compensadoras e em outros signaes que as caracterizam" (CHAGAS, 1910d). "Em seguida ao fenomeno de extra-systoles, atribuivel á perturbação da excitabilidade, vêm, por ordem de frequencia, irregularidades do ritmo, expressivas de alterações na condutibilidade do miocardio. Aqui, são observados diversos gráos de perturbação da função, desde a decadencia inicial della, revelada nos traçados jugulares pelo maior espaço entre a elevação do pulso jugular e do pulso carotidiano, até a eliminação completa, na qual o ritmo ventricular é independente do ritmo da auricula" (CHAGAS, 1911). Fundamentando sempre suas deduções clínicas nos dados fornecidos pela anatomia patológica, mostra CHAGAS que, "não deve sorpreender sejam aqui referidas tantas variantes do ritmo cardiaco, visto como, para explical-as, existe grande numero de verificações histo-patologicas do parazito no miocardio, aí determinando processos inflamatorios, de tal modo intensos, que explicam fartamente os fatos de semeiotica referidos" (CHAGAS, 1911). Registra também "o curioso aspecto das alterações do ritmo cardiaco nesta molestia, aspecto bem diverso, nas suas modalidades, do que é observado em miocardites atribuiveis a outros factores etiologicos" (CHAGAS, 1913a). Três anos depois de descoberta a esquizotripanose, escrevia CHAGAS que "nas regiões onde grassa a molestia o numero de individuos adultos, com profundas perturbações cardiacas é impressionante, podendo-se quase affirmar que a totalidade dos habitantes de casas infestadas pelo barbeiro apresentam phenomenos morbidos para o lado do orgão central da circulação. Consequencia immediata deste facto é o grande numero de mortes rapidas occasionadas pela molestia, sendo realmente impressionante, nas estatisticas de letalidade, o numero de pessoas falecidas repentinamente, por syncope cardiaca. Ou assim é, ou a morte occorre por asystolia, aguda ou chronica. Seja como for, o coeficiente letal, nesta forma clinica da tripanozomiase, é muito elevado sendo ahi que são encontrados numerosos obitos de pessoas moças" (CHAGAS, 1912a). Em 1922, CHAGAS & VILLELA (1922) dão à publicidade importante trabalho. Entre as múltiplas manifestações clínicas atribuídas às formas crônicas da esquizotripanose, salientam as "perturbações do rythmo cardiaco, occasionadas pela localização e pelas lesões do Schizotrypanum no miocardio" (CHAGAS, 1910d) e concluem que "de tal modo assim é que poderiamos caracterizar esta entidade como a doença, por excellencia, das alterações do rythmo, e especialmente do pulso lento" (CHAGAS & VILLELA, 1922). "Essa condição da doença na qual predominam, sobre quaisquer outros, os sympto-

mas cardiacos, é generalisada nas zonas de trypanozomiase endemica, e ahi observada com intensidade e extensão maximas, constituindo assim a caracteristica por excellencia da trypanosomiase americana" (Chagas & Villela, 1922). Em muitos outros trabalhos realizados por Chagas e pesquisadores que com êle trabalharam em estreita colaboração, especialmente Villela e E. Chagas, encontram-se valiosas contribuições para o melhor conhecimento dêste importante capítulo da esquizotripanose (Chagas, 1916, 1916a, 1916b, 1918, 1920, 1920a, 1920b, 1920c, 1925a, 1926, 1928, 1928a; Chagas & Villela, 1923; Villela, 1923a; Torres, 1923, 1928, 1930; E. Chagas, 1928, 1930, 1930a, 1931, 1932).

As observações de Chagas e colaboradores sôbre as alterações cardíacas na esquizotripanose, mostram "claramente a extensão das investigações do cientista brasileiro neste aspecto parcial, porém o mais importante, da clínica da doença, do qual nos legou observações que constituem exemplo de espírito de investigação científica e que hoje, relacionadas ao estádio evolutivo dos conhecimentos médicos da época em que foram feitas, não podem ser classificadas sinão como modelares, constituindo um patrimônio científico sem dúvida dos mais notáveis que tem sido produzidos em nossos país. Muitos anos se passaram para que novos conhecimentos, de importância realmente essencial, sôbre alterações cardíacas na esquizotripanose fossem adquiridos e ainda hoje, reforçadas por grande número de observações confirmatórias, feitas por diversos autores, permanecem pouco alteradas, e mais ampliadas do que modificadas, as descrições iniciais sôbre elas feitas por Chagas" (Laranja, 1949).

Em trabalho publicado em 1928 nos *Archives des Maladies du Coeur,* expressou Chagas um conceito de grande alcance epidemiológico, o qual, sòmente vinte anos mais tarde foi retomado e aplicado em bases mais extensas: "L'arythmie constitue, dans modalités diverses, le grand symptôme de cette maladie, et l'élément le plus précieux pour évaluer la fréquence endémique de l'infection par le *Trypanosoma cruzi*" (Chagas, 1928).

V) — Durante o período de Lassance, o estudo da anatomia patológica da nova doença, além das referências gerais dadas por Chagas e colaboradores, foi objeto de trabalhos de Vianna (1911), Torres (1917, 1917a, 1923, 1928, 1930), Pinheiro Chagas (1920), Crowell (1923) e Azevedo (1933).

Vianna (1911) estudou as alterações cardíacas, do sistema nervoso, dos músculos estriados e do sistema glandular endócrino não só de casos humanos da moléstia como também de animais experimentalmente infectados. Seu trabalho constitui uma das mais importantes contribuições dadas pelos pesquisadores de Manguinhos ao estudo da doença de Chagas. Dentre outros fatos, mostrou que "o coração é uma das visceras de predileção do esquizotripano" e que "nos cazos nos quais o orgam é portador dos germens, encontram-se dentro dos segmentos de Weissmann espalhados por toda a espessura do musculo cardiaco, parazitos de forma arredondada, com um nucleo e blefaroplasto". "Estas formas do parazito variam muito numericamente no in-

terior da celula cardiaca, vendo-se delles em divizão binaria". Estava assim descrita uma das características biológicas fundamentais do *Schizotrypanum cruzi*, ou seja, a sua multiplicação, na intimidade dos tecidos, sob a forma de leishmania. Mostrou ainda VIANNA que "no tecido conjuntivo disposto de permeio ás fibras, observam-se ora fenomenos inflamatorios generalizados (cazo agudo), ora fócos esparsos em vários pontos". "Os fenomenos inflamatorios são muitas vezes localizados ao redor de fibras parazitadas, mas não só, ha zonas infiltradas sem haver parazitos, como ha muitas celulas parazitadas sem reação pericelular" (VIANNA, 1911).

O estudo das alterações cardíacas foi ampliado por TORRES (1917, 1917a, 1923, 1928, 1930, 1931, 1941). PINHEIRO CHAGAS estudou as alterações hepáticas (PINHEIRO CHAGAS, 192) e AZEVEDO (933) as da glândula tireoide.

Investigações sôbre o quadro hematológico na doença de Chagas foram feitas por EZ. DIAS (1912).

VI) — Apesar de terem sido concentradas em Lassance e arredores as observações de CHAGAS e colaboradores, encontramos informações dêste teôr: "em vastas regiões de Minas, aí comprihendidos centros populosos, grandes cidades, conhecemos, de observação pessoal os terriveis efeitos da thyreoidite parasitaria. Os vastos municipios de Sete Lagoas, Curvello, Montes Claros, Bocayuva, Paracatú, S. Francisco e até Grão Mogol e Rio Pardo, nas regiões limitrophes com a Bahia, nos forneceram a grande somma de observações clinicas que possuimos. Em todas ellas o hematophago é encontrado nas cidades e nas populações ruraes, infelicitando toda aquella zona" (CHAGAS, 1911a). E ,até hoje, decorridos 42 anos da descoberta de esquizotripanose, por mais incrível que pareça, nossos conhecimentos sôbre a distribuição geográfica da doença de Chagas progrediram tão pouco que podemos ainda repetir, como se fôsse escrito agora, êste trecho de CHAGAS, de 1910: "São ainda muito incompletas as noções que possuimos sobre a distribuição geografica da nova entidade morbida. Temos, é certo, observado doentes vindos de zonas remotas, do extremo norte de Minas Geraes e de regiões oeste do mesmo Estado. Si a distribuição da molestia estiver em relação com a do conorhino transmissor, nesse caso vastissima será a extensão (do paiz) onde grassará a eschizotrypanose" (CHAGAS, 1910).

Outros dados e observações epidemiológicas realizadas durante o período de Lassance encontram-se nos trabalhos de CHAGAS (1910a, 1919b, 1911a, 1912, 1916a, 1916b, 1920); CHAGAS, C. & CHAGAS E. (1935); TORRES (1915, 1923) e VILLELA, (1923).

VII) — A importância do cão e do gato como reservatórios domiciliares do *S. cruzi* e a conseqüência epidemiológica daí resultante foi acentuada em numerosos trabalhos (CHAGAS 1909a, 1909b, 1909d, 1909e, 1911, 1916, 1918; TORRES, 1915; VILLELA, 1923, 1924; DIAS, 1933, 1934, 1936a).

Foi assinalado o encontro de várias espécies de tatús (*Dasypus novemcinctus, Dasypus sexcinctus, Dasypus unicinctus*) naturalmente infectados pelo *S. cruzi* na zona de Lassance, mesmo em regiões afastadas de habitação humana (Chagas, 1912, 1918, 1920b; Torres, 1915; Torres & Azvvedo, 1929; Dias, 1933, 1934, 1935, 1936a). Em buracos do solo que são residências habituais de tatús, foram encontrados *Panstrongylus geniculatus* infectados por flagelados identicos ao *S. cruzi* (Chagas, 1912, 1920b, 1920c). Chagas mostrou que o *P. geniculatus* transmite o tripanosoma do tatú (1912, 1920b, 1920c).

Foi encarada a possibilidade da passagem do *S. cruzi* de sua condição silvestre (tatú) para os domicílios (homem) através do *P. geniculatus* que acidentalmente pode freqüentar residências humanas. Aí, a infecção seria perpetuada pelas espécies domiciliares de triatomíneos (Chagas 1920b, 1920c).

E. Chagas (1935) refere que Villela encontrou em Lassance uma cotia (*Dasyprocta agouti*) naturalmente infectada pelo *S. cruzi*.

VIII) — Por sugestão de Chagas, Guerreiro e Machado (1913) aplicaram a reação de Bordet e Gengou, com êxito, no diagnóstico da esquizotripanose. Êstes pesquizadores de Manguinhos, bem como outros que se ocuparam dêste assunto durante o período de Lassance (Villela & Bicalho, 1923; Lacorte, 1926: Dias, 1936a) empregavam como antígeno extratos de órgãos de animais infectados, preparados de diversas maneiras. Foram satisfatórios os resultados obtidos no diagnóstico das formas crônicas da doença. Muniz (1930) empregou, para o diagnóstico da doença de Chagas, o antígeno de Watson, preparado com o *T. equiperdum*. É oportuno lembrar que sòmente em 1936 Kelser introduziu um método prático para a obtenção de antígenos a partir de culturas do *Schizotrypanum cruzi*. Mostraremos adiante que a reação de fixação do complemento feita com antígeno e técnica adequadas, é considerada hoje, pela generalidade dos autores, como o meio mais prático e seguro para a confirmação laboratorial dos casos crônicos e como elemento básico para a realização de inquéritos epidemiológicos extensos.

O conceito recentemente expresso pelo grupo de Bambuí, de que a positividade da reação de fixação do complemento feita com antígeno de cultura do *S. cruzi* é suficiente para se firmar um diagnóstico de doença de Chagas, quando se têm, de um caso, fundamentadas suspeitas clínicas (miocardiopatia não valvular, tipo da alteração eletrocardiográfica, etc.), acha-se esboçado no trabalho de Chagas & Villela, publicado em 1922. Tendo documentado o referido trabalho, com numerosas observações de casos de esquizotripanose, diagnosticados segundo um critério clínico-sorológico, assim se referem: "não há como contestar a razão etiológica de tôdas as observações clínicas aqui apresentadas, embora de muitos doentes não tenha sido feito nem o diagnóstico parasitologico nem a verificação necroscópica" (Chagas & Villela, 1922).

É curioso que o xenodiagnóstico, método proposto por Brumpt em 1914 para a evidenciação parasitológica da infecção, muito útil nos casos crônicos, quando os flagelados no sangue circulante são escassos

e não reveláveis pela pesquisa direta, tenha sido completamente olvidado pelos pesquisadores de Lassance. A não ser nos trabalhos de Dias (Dias, 1934a, 1935, 1936a, 1938), publicados pelo menos 20 anos depois da descrição do novo método diagnóstico, sòmente encontramos referência ao xenodiagnóstico no trabalho de Torres (1915). Dias demonstrou que nos casos crônicos o método proposto por Brumpt é superior aos processos usuais para a demonstração etiológica da infecção: exame a fresco e em gota espessa, hemocultivo e inoculação em animais (Dias, 1936a.)

IX) — Repetidamente salientou Chagas (Chagas 1910, 1910d, 1911a, 1911b, 1912a, 1916, 1916b, 1918) a importância médico-social da nova entidade mórbida por êle descoberta, referindo-se à "existencia nos sertões mineiros e em grande parte do interior do paiz, de uma condição endemica que constitue, naquellas zonas, obstaculo definitivo ao progresso material de um grande povo, ao aperfeiçoamento de uma raça, ao augmento natural e progressivo de uma população, ao trabalho productivo, á energia creadora, á felicidade, enfim, da vida alli fatalmente destinada ao aniquillamento trazido pela acção intensa e permanente de um grande mal" (Chagas, 1911a).

X) — No domínio da profilaxia da esquizotripanose, mostrou Chagas que "o combate á trypanosomiase americana representa, em nosso paiz, um dos problemas sanitarios de maior relevancia, ligado aos mais altos interesses economicos e ao aperfeiçoamento progressivo da nossa raça, nas zonas ruraes. E isso em vastas regiões dos nossos sertões, alli onde maior valia representam a robustez e a resistencia do homem, votado ao trabalho de cultivar os campos, occupado em misteres que exigem, antes de tudo, a normalidade da vida organica" (Chagas, 1918). "A prophylaxia da nova doença consta essencialmente do combate ao insecto transmissor" (Chagas, 1918) são também palavras do grande tropicalista.

Lima (1927) descreveu, com material procedente de Lassance, um novo scelionídeo, o *Telenomus fariai*, parasito endofago de ovos de triatomíneos e fêz referência "ao lado da applicação pratica" do parasitismo dêste microhimenóptero, isto é, da assim chamada luta biológica. No ano seguinte (Lima, 1928) estudou a biologia dêste novo *Telenomus*.

III — TRABALHOS REALIZADOS EM BAMBUÍ

As investigações sôbre a doença de Chagas desenvolvidas em Bambuí e municípios vizinhos contribuiram decisivamente para o notável impulso que o estudo desta doença tomou nestes últimos anos. Embora tenha havido uma certa continuidade dos trabalhos que lá foram iniciados desde 1940 por Martins e colaboradores, as investigações realizadas em Bambuí podem ser divididas em dois grupos. Um primeiro grupo de pesquisas preliminares feitas antes da instalação do Centro de Estudos e Profilaxia da Doença de Chagas, em novembro de 1943, por

feliz iniciativa de HENRIQUE ARAGÃO, então Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, e os trabalhos realizados depois de instalado o referido Centro.

O primeiro grupo de trabalhos foi feito sob a orientação de MARTINS (MARTINS & TUPINAMBÁ, 1940; MARTINS & cols, 1940; LASMAR, 1944). Representa a primeira contribuição para a casuística da infecção aguda chagásica no Estado, depois das pesquisas feitas em Lassance. A demonstração de numerosos casos agudos de doença de Chagas em Bambuí por MARTINS, VERSIANI, TUPINAMBÁ e médicos que clinicavam naquela cidade do oeste de Minas, sugeriu à direção do Instituto Oswaldo Cruz fôsse lá instalado um Centro de Estudos de modo a facilitar investigações, *in loco,* de vários problemas relacionados com a esquizotripanose.

Uma série de relevantes contribuições de ordem clínica, epidemiológica, laboratorial e profilatica resultaram das investigações desenvolvidas por pesquisadores de Manguinhos com o farto material proporcionado pelo Centro de Estudos de Bambuí. Foram de três ordens as principais contribuições dadas por Bambuí:

1.ª) — A individualização da cardiopatia crônica da doença de Chagas em bases clínicas, anatomo-patológicas, eletrocardiográficas e experimentais; a demonstração de sua grande freqüência nos indivíduos infectados e a verificação de que, em certas zonas rurais, a esquizotripanose figura entre os mais importantes fatôres etiológicos de cardiopatia.

2.ª) — A experiência adquirida com o emprêgo da reação de fixação do complemento feita com antígenos de cultura do *Schizotrypanum cruzi,* permitindo uma confirmação rápida e bastante segura dos casos crônicos de esquizotropanose, diagnosticados clìnicamente, e possibilitando, quando feita em larga escala, uma avaliação bem aproximada da incidência da doença de Chagas em populações de zonas endêmicas.

3.ª) — A possibilidade da utilização de inseticidas de forte ação letal e de prolongada ação residual para os triatomíneos, em campanhas de profilaxia da doença, em larga escala, pelo combate aos seus transmissores domiciliares.

I) — MARTINS & TUPINAMBÁ procuram explicar a falta de publicações sôbre a esquizotripanose, fora de Lassance, não só no longo período durante o qual foram se desenvolvendo as investigações naquela zona, mas também muito tempo depois, pelo "descredito em que cahiu entre nós a moléstia de Chagas devido, de um lado, aos exageros iniciaes, aliás perfeitamente justificaveis e mesmo inevitaveis, que incluiam no seu quadro symptomatologico syndromes etiologicamente distinctas, e, de outro lado, a intensa campanha de desmoralização movida pelos inimigos pessoaes do grande mestre". "Mas, como já tem sido dito varias vezes, a principal causa desse desconhecimento consistia na ausencia de systematização de signaes clinicos que permittissem o diagnostico da molestia, quer nas formas agudas quer nas chronicas, pelos clinicos do interior, tornando esse diagnostico apanagio dos laboratoristas" (MARTINS & TUPINAMBÁ, 1940). "Importantes argumentos contrários á doutrina da etiologia esquisotripanósica do bócio endêmico,

advogada por CHAGAS, foram apresentados e tambem não se confirmou a interpretação etiopatogênica por ele dada a outras manifestações clínicas (mixedema, distrofias, paralisias) presentes em casos de esquizotripanose" (LARANJA, 1949).

"O cepticismo generalizado quanto à realidade das formas clínicas crônicas, orientou a pesquisa da moléstia para os casos de infecção aguda, nos quais a facilidade da demonstração do parasito no organismo permitia deduções etiopatogênicas seguras para as manifestações clínicas encontradas" (LARANJA, 1949). Assim, somente na Argentina e Uruguai, paises onde os casos de infecção inicial pelo *Schizotrypanum cruzi* foram mais exaustivamente pesquisados, a casuística atingiu de perto a cifra de 2.000 casos agudos em período relativamente curto. Para isso muito contribuiu a descrição da "conjuntivite esquizotripanósica unilateral", importante sinal que ocorre em grande número de casos de infecção recente, e denominado por DIAS e E. CHAGAS, sinal de ROMAÑA, (1935) "em homenagem ao scientista argentino que primeiro, em trabalho publicado, chamou explicitamente a attenção para elle" (MARTINS & TUPINAMBÁ, 1940).

Os casos agudos de doença de Chagas diagnosticados por MARTINS & colaboradores e LASMAR em Bambuí e no vizinho município de Luz (MARTINS & TUPINAMBÁ, 1940; MARTINS & cols, 1940; LASMAR, 1944), representam o primeiro palpável reflexo, no Brasil, das importantes pesquisas encetadas fora dele. Impressionados pela facilidade com que foram reunidos, em tão pouco tempo, os casos estudados, consideram "urgente mostrar a verdadeira importancia da molestia de Chagas, provar objetivamente, por meio de observações numerosas, que não se trata de molestia rara, curiosidade nosologica, que ataca esporadicamente sertanejos de baixo nivel economico, residentes em regiões distantes e pouco produtivas. Para isso não basta fazer calculos teoricos sobre o numero de cafuas existentes no Brasil e sobre a percentagem de seus habitantes que devem estar infetados". "É preciso demonstrar a existencia do inseto transmissor infetado na maior parte do território nacional; verificar a percentagem de indivíduos doentes, com a forma cronica, em diferentes regiões; esclarecer os clinicos, afim de que sejam devidamente registrados os casos agudos, no maior numero possível. É necessário divulgar amplamente que o diagnostico da molestia, pelo menos na sua fase aguda, não é apanagio de laboratoristas, pois que ela apresenta sintomatologia um tanto polimorfa talvez, mas com elementos seguros e constantes, que permitem perfeitamente fazer o diagnostico clinico, que só necessitará do laboratorio para sua confirmação" (MARTINS & cols., 1940). Aí está o primeiro apêlo aos médicos do interior para que colaborassem no estudo da difusão da endemia chagásica, mais tarde renovado por DIAS (1942).

II) — Logo em seguida à instalação do Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas, em 1943, na cidade de Bambuí, no oeste de Minas, foi organizado um plano de combate à esquizotripanose. Em relatório apresentado ao Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, reunindo os resultados dos trabalhos realizados nos seis primeiros meses de ativi-

dade do Centro, DIAS (1945) assim encara "as linhas gerais de um plano de profilaxia da moléstia de Chagas". "1) — combate direto aos vectores intermediários; 2) — combate aos portadores vertebrados de *Schizotrypanum cruzi;* 3) — melhoria das habitações rurais; 4) — educação sanitária" (DIAS, 1945). Foram empregados vários inseticidas de contato e repelentes, sendo no início mais correntemente utilizados o querozene, sob a forma de emulsão em água e sabão, e o óleo de creosoto como repelente. Foram também feitas experiências com o ácido cianídrico, em fumigações, e com o lança-chamas. Nenhum dos métodos mostrou-se realmente eficaz. Em 260 expurgos domiciliares foram capturados 2.182 triatomíneos.

Em folheto de divulgação publicado por DIAS em 1944 e em trabalho do mesmo Autor saído em 1946, resumindo as atividades do Centro de Bambuí, durante dois anos, encontram-se referências ao emprêgo rotineiro "de um produto a base de Piretro, Pó Fly-Tox, que até agora se tem mostrado o melhor inseticida contra o barbeiro" (DIAS, 1944, 1946). Êste inseticida apresenta "a grande vantagem decisiva de desalojar ràpidamente o inseto e matá-lo (lentamente)". De outro lado, "as duas grandes desvantagens do produto são a falta de ação ovicida e a falta de ação residual, que tornam obrigatória a repetição do expurgo a curtos intervalos, para matar as larvas nascidas de pouco e os sobreviventes das primeiras aplicações" (DIAS, 1946). Na referido trabalho consta ainda que haviam sido eliminados "49.556 triatomas da cidade de Bambuí e seus arredores", e que "graças principalmente aos expurgos com pó Fly-Tox" esta cidade acha-se "praticamente livre de barbeiros" (DIAS, 1946). Em outros trabalhos de ordem geral, publicados por DIAS e DIAS & LARANJA (DIAS, 1946a, 1947, 1948, 1948a, 1949, 1950; DIAS & LARANJA, 1948) são apresentados os resultados dos trabalhos de profilaxia realizados em Bambuí e arredores. Não foram registrados casos agudos novos nas áreas convenientemente expurgadas com inseticidas à base de piretro. Em 1950 haviam sido eliminados de Bambuí mais de 100.000 transmissores (DIAS, 1950).

Em vista dos excelentes resultados obtidos com o "gammexane" (isômero gama da hexaclorociclohexana), contra insetos e outros artrópodos nocivos, DIAS & PELLEGRINO (1948) empreenderam, com o referido inseticida, uma série de ensaios de laboratório e trabalhos de campo com o fim de estudar a sua ação contra os triatomíneos transmissores da doença de Chagas. Concluiram que "o produto sob a forma de "Gammexane P530" (pó molhável) é o que parece ser mais aconselhável na prática, na proporção de 1 a 2 gramas de isômero gama por metro quadrado". "É mais recomendável a pulverização a mais fina possível para ser obtida maior concentração do inseticida na superfície do barro que absorve muito líquido quando grosseiramente aspergido. Como inseticida de ação residual, é o que melhores resultados tem proporcionado. Após um mês há uma queda sensível do poder tóxico, mas êste pode durar até pelo menos 2 meses. A ação tóxica é bem mais pronunciada sôbre os barbeiros adultos do que sôbre as formas jovens, não se exercendo sôbre os ovos. Por isso, e por decair com o tempo a ação residual, deve ser recomendada a repetição dos expurgos domiciliares

com 1 ou 2 meses de intervalo. O "Gammexane" (pó molhável), não tendo ação repelente ou irritante sôbre os barbeiros e não determinando sua saída dos esconderijos dentro das paredes, com vantagem pode ser aplicado em expurgos mixtos com o pó de piretro, que a possui em grau acentuado; a aplicação combinada torna mais rápida e mais completa a destriatomização das cafuas" (Dias & Pellegrino, 1948). Êste trabalho constituiu contribuição básica para o desenvolvimento das investigações de profilaxia, orientadas de forma mais ampla, que desde 1949 o Instituto Oswaldo Cruz vem realizando na zona de Uberaba, em colaboração estreita com o Serviço Nacional de Malária. Também baseado nele foram realizados por Pellegrino & Brener (1951), com absoluto êxito, os trabalhos de profilaxia de um foco de doença de Chagas verificado na Cidade Industrial, nas proximidades de Belo Horizonte.

III) — Extensa revisão das manifestações clínicas da esquizotripanose, baseada na experiência adquirida durante 5 anos em Bambuí e Manguinhos, onde mais de seiscentos casos de doença de Chagas foram estudados e acompanhados por repetidos exames clínicos e de laboratório, acha-se magistralmente condesada no trabalho de Laranja, Dias & Nobrega (1948). A parte referente à cardiopatia crônica esquizotripanósica, que aí ficou definitivamente individualizada como entidade cardiológica, constitui, sem dúvida, a maior contribuição dada à moléstia de Chagas depois daquelas legadas pelo seu genial descobridor.

Foi sugerido o seguinte esquema para a sistematização das formas clínicas da esquizotripanose: A) Forma aguda; B) Formas crônicas: 1) forma indeterminada (cardíacos potenciais); 2) forma cardíaca (cardiopatia crônica); 3) forma nervosa (?). Para a forma aguda mantiveram os Autores a orientação inicial de Chagas que apenas separava, sob critério prognóstico, dois grupos de casos: o benigno e o maligno (com meningo-encefalite). Ponderam entretanto que na fase aguda, a presença de manifestações cardíacas com sinais de insuficiência, "também representa índice de máu prognóstico, ocasionado não raramente a morte mesmo em ausência de manifestações de meningo-encefalite" (Laranja, Dias & Nobrega, 1948). Não foram encontrados em Bambuí, casos "com manifestações nervosas, classificaveis na forma nervosa crônica da esquizotripanose".

"O estudo clínico dos numerosos casos de cardiopatia crônica chagásica, observados no Centro de Estudos da Moléstia de Chagas em Bambuí e acompanhados durante um período relativamente longo, permitiu confirmar amplamente as descrições prévias de Chagas, Villela, Ev. Chagas e outros, bem como evidenciar elementos novos para a caracterização desta entidade clínica e traçar-lhe tipos evolutivos, com diferente significação prognóstica. O estudo dos diversos tipos de dispnéia decorrentes da insuficiência cardíaca dêste tipo de cardiopatia; a ocorrência freqüente de sintomas abdominais por congestão passiva do fígado, como manifestação precoce desta insuficiência cardíaca, que, muitas vêzes, assume a forma predominantemente direta, ou assume a forma inicialmente bilateral; a fácil restauração do equilíbrio circula-

tório nas primeiras descompensações cardíacas de muitos casos de cardiopatia crônica chagásica; a observação da ocorrência freqüente de desdobramento da 2.ª bulha no foco pulmonar, achado a que atribuimos valor diagnóstico em determinadas circunstâncias, e de acentuação relativa do tom pulmonar, mesmo em ausência de insuficiência cardíaca; o caráter tardio da cardiopatia crônica no curso da infecção esquizotripanósica, com evolução usualmente lenta e com longa sobrevida do doente; a descrição sistematizada dos caracteres radiológicos do coração em casos de cardiopatia crônica constituem, entre outras, observações assinaladas ou particularmente salientadas pelos estudos feitos em Bambuí" (Laranja, 1949).

Particular atenção foi dada ao método eletrocardiográfico para o reconhecimento e a caracterização da cardiopatia crônica esquizotripanósica (Dias, Laranja & Nobrega, 1945, 1948; Dias, 1945b; Dias & Laranja, 1948; Laranja, Dias & Nobrega, 1948, 1948a, 1948b; Laranja, Dias & Pellegrino, 1950). "Os pesquisadores do Centro de Estudos da Moléstia de Chagas em Bambuí encontraram, em grupo numeroso de doentes com cardiopatia crônica esquizotripanósica, alterações eletrocardiográficas que por sua incidência particularmente elevada nesta cardiopatia, e por outras razões, constituem, de certo modo, uma característica peculiar a esta cardiopatia e representa elemento importante para sua caracterização. Êste quadro eletrocardiográfico não é encontrado em análises de grupos semelhantes de indivíduos com outros tipos de cardiopatia, nem em grupos de indivíduos das zonas endêmicas que não apresentam provas laboratoriais positivas para doença de Chagas. O quadro eletrocardiográfico da cardiopatia crônica da moléstia de Chagas constitui um dos mais variados e curiosos que se encontram em cardiopatologia, estando nele representados quase todos os tipos de alterações do eletrocardiograma. Destacam-se, por sua freqüência particular, as extra-sistoles ventriculares, o bloqueio de ramo direito, os bloqueios auriculo-ventriculares de todos os graus, as alterações primárias da onda T, que algumas vêzes assume o "contôrno coronário", e alterações atípicas da fase incial do complexo ventricular. Cêrca de 75% dos doentes com cardiopatia crônica apresentam distúrbios da condução do estímulo, dentre os quais, os casos de bloqueio de ramo direito formam a maioria. A grande incidência do bloqueio de ramo direito, presente em quase metade dos casos de cardiopatia crônica, assinalada e valorizada em sua significação diagnóstica pelos trabalhos feitos em Bambuí, constitui uma das peculiaridades da cardiopatia crônica chagásica, não havendo exemplo de outra etiologia que ocasione tão elevada incidência dêsse distúrbio da condução especialmente si se considera a freqüência proporcionalmente mínima dos bloqueios completos de ramo esquerdo observados nesta cardiopatia. A presença de bloqueio de ramo direito ou de bloqueio A-V total em indivíduo com menos de 50 anos e que tenha tido contacto com triatomídeos infectados deve orientar desde logo para a esquizotripanose a pesquisa etiológica da cardiopatia. Também freqüentes na cardiopatia crônica da moléstia de Chagas são os distúrbios da formação do estímulo, representados na grande maioria das vêzes pelas extra-sistoles ventriculares, comumente politópicas e múltiplas,

ora ritmadas, ora irregulares, conforme havia assinalado CHAGAS. Os achados eletrocardiográficos descritos nos trabalhos feitos em Bambuí resultaram da análise de um grupo numeroso de casos de cardiopatia crônica, compreendendo em sua maioria indivíduos não selecionados, ambulatórios e em idades variando entre amplos limites, de modo que representam a média daquilo que ocorre na cardiopatia crônica da moléstia de Chagas" (LARANJA, 1949).

A incidência da cardiopatia crônica esquizotripanosica, em doentes com infecção crônica foi estimada, pelas alterações eletrocardiográficas indicadoras de comprometimento miocárdico, em cêrca de 50%, na zona de Bambuí (LARANJA, DIAS & NOBREGA, 1948).

A mortalidade nos casos de cardiopatia crônica chagásica em Bambuí foi de 8% em 487 casos (39 fatais) (DIAS, 1950).

Na revisão crítica da literatura sôbre a cardiopatia crônica da doença de Chagas, realizada recentemente por LARANJA (1949), assim se expressa o Autor: "É deveras surpreendente que em tão pouco tempo se esteja processando modificação tão radical do pensamento médico em relação a esta doença, e em especial em relação à cardiopatia que ela origina em sua fase crônica, cardiopatia esta, até há bem poucos anos, tida como não bem definida clìnicamente ou até mesmo como duvidosa em sua realidade clínica, e considerada nos meios clínicos como raridade, sem nenhuma expressão médico-social. Tanto era assim, que a possibilidade da etiologia esquizotripanósica de um caso de cardiopatia crônica nunca entrava em cogitação, pela quase totalidade dos médicos em nosso país. Hoje, o panorama que se nos apresenta é bastante diferente: a realidade clínica da cardiopatia crônica da moléstia de Chagas já não mais comporta dúvidas, pois suas características clínicas, eletrocardiográficas, radiológicas e anatomopatológicas estão bastante bem delimitadas, e a sua reprodução em animais experimentalmente infectados foi realizada, confirmando inteiramente as descrições clínicas; por outro lado, dados atualmente disponíveis tendem a apontar-lhe considerável significação como problema médico-social da maior importância, em certas regiões, e há por parte de grande número de médicos, vivo interêsse por êste problema. O conhecimento dos caracteres clínicos da cardiopatia crônica chagásica estão sendo ràpidamente assimilados nos meios clínicos do nosso país e muitos casos têm sido ùltimamente diagnosticados por médicos de diversas regiões. Os resultados iniciais de pesquisas realizadas nestes últimos anos, em particular os relacionados com a incidência da esquizotripanose como causa de cardiopatias em zonas endêmicas, tornam obrigatória a realização de novas pesquisas sistematizadas, para confirmar, no todo ou em parte, aqueles resultados, ou para infirmá-los" (LARANJA, 1949). Para infelicidade nossa, as investigações que têm sido realizadas recentemente em Minas Gerais e em outros Estados são concordantes em demonstrar que o trágico quadro descrito em Bambuí, com tôdas as suas funestas conseqüências para a Nação, se repete em muitas outras regiões, e que, possìvelmente, futuras investigações demonstrarão que o problema médico-social da doença de Chagas é muito mais grave do que se poderia avaliar com os dados atualmente existentes.

IV) — As manifestações da infecção aguda esquizotripanósica e a descrição sistematizada dos sinais da cardiopatia aguda foram revistas por Laranja, Dias & Nobrega (1948), que se basearam no estudo de 103 casos agudos observados em Bambuí. Êstes Autores "analisam particularmente o valor diagnóstico de alguns sinais físicos (bulhas cardíacas, hipotensão arterial, taquicardia), revêm a patogenia do edema da fase aguda, o chamado "mixedema", descrevem os achados eletrocardiográficos, que são, em conjunto, diferentes dos que se encontram na cardiopatia crônica, assinalam a ocorrência freqüente de aumento da sombra cardíaca, devido, provàvelmente em muitos casos, à presença de derrame pericárdico, insistindo, ainda, sôbre o caráter reversível das alterações cardíacas desta fase da infecção" (Laranja, 1949). Nestes 103 casos observados, a percentagem de mortalidade foi de 13,59% (Dias, 1950).

V) — Os dados clínicos, eletrocardiográficos e radiológicos encontrados em Bambuí foram reproduzidos experimentalmente, em cães, por Pellegrino (1946, 1947) e Laranja, Pellegrino & Dias (1948). Êstes últimos autores, em trabalho apresentado ao Congresso Interamericano de Cardiologia reunido em Chicago em 1948, assim resumiram o resultado de suas observações: "Cães experimentalmente inoculados com sangue de casos humanos de doença de Chagas ou com conteúdo intestinal de triatomas infectados com *S. cruzi*, foram estudados sob aspectos clínico, eletrocardiográfico, radiológico e anatomopatológico. Cães assim infectados apresentaram um tipo de cardiopatia muito semelhante, sob diversos aspectos, ao que se encontra em casos humanos de doença de Chagas, em seus períodos agudo e crônico. As semelhanças entre os dois tipos de cardiopatia, a experimental e a humana, são particularmente notáveis no período crônico da infecção. Após vários meses de infecção (cêrca de um ano), verificaram-se vários tipos de distúrbios do ritmo cardíaco, aumento do coração (em particular das cavidades direitas)e sinais de insuficiência cardíaca congestiva, com dispnéia, ritmo de galope, edema e ascite. Morte em insuficiência cardíaca e morte súbita foram observadas em cães inoculados. As alterações eletrocardiográficas observadas incluem: bloqueio de ramo direito, completo e incompleto; extra-sístoles ventriculares, isoladas, bigeminadas, trigeminadas, ou ocorrendo em forma de curtos paroxismos (taquicardia extra-sistólica ventricular); bloqueio A-V de grau leve; dissociação completa A-V transitória (dissociação isorítmica); alterações primárias transitórias da onda T; padrão eletrocardiográfico de "isquemia-lesão" da parede anterior do coração e prolongamento do intervalo Q-T (miocardite aguda); bloqueio incompleto de ramo esquerdo; alterações atípicas do QRS; curva de hipertrofia ventricular direita" (Laranja, Pellegrino & Dias, 1948). Êstes achados experimentais, além de assegurar definitivamente a validade das descrições clínicas que vinham sendo feitas desde Chagas, contribuiram decisivamente para que a cardiopatia da doença de Chagas constituisse uma das entidades cardiológicas melhor conhecidas atualmente.

VI) — As características epidemiológicas do fóco de Bambuí foram descritas por Dias (1945, 1946). "Trata-se de um foco tìpicamente domiciliar da infecção, mantido à custa das únicas espécies transmissoras ocurrentes, o *Triatoma infestans* e o *Panstrongylus megistus*" (Dias, 1946). A infecção "só foi verificada no homem, no cão e no gato, tendo sido negativos todos os xenodiagnósticos praticados em animais silvestres (tatús, gambás, coelhos e preás)" (Dias, 1946).

Das duas espécies de transmissores domiciliares assinalados em Bambuí, o *Triatoma infestans* é o mais abundante, sendo 13,5 vêzes mais freqüente que o *P. megistus*. Para dar uma idéia do grau de infestação das cafuas pelos transmissores, basta dizer que em apenas 13 delas, das mais intensamente infestadas, foram capturados nada menos que 14.740 "barbeiros". O índice de infecção dos transmissores domiciliares pelo *S. cruzi* foi de 24,9%.

Além do *T. infestans* e do *P. megistus*, foram assinalados em Bambuí o *Psammolestes coreodes*, que habita os ninhos do Dendrocolaptídeo *Phacellodomus rufifrons rufifrons*, vulgarmente conhecido como João Graveto (Dias, 1945) e o *Panstrongylus diasi* que foi descrito por Pinto & Lent (1946).

O Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas em Bambuí possui atualmente uma das maiores e seguramente a melhor casuística estudada. Já foram demonstrados cêrca de 2.000 casos de infecção esquizotripanósica em Bambuí e arredores (Dias, 1951). Até o primeiro semestre de 1949 (Dias, 1949b), contava Bambuí com 1.500 casos com provas de laboratório positivas para a doença de Chagas: 350 casos tiveram confirmação parasitológica da infecção pelo encontro do *S. cruzi* (exame de sangue a fresco positivo em 100 casos, gota espessa em 10, leishmanias no coração em 8 e xenodiagnóstico em 232); 1.150 indivíduos tiveram a reação de fixação do complemento com antígeno de cultura do *S. cruzi*, positiva. A distribuição, por idade, dos 1.500 indivíduos com provas laboratoriais positivas, foi a seguinte: até 5 anos: 105; de 6 a 10 anos: 197; de 11 a 15 anos: 197; de 16 a 20 anos: 190; de 21 a 30 anos: 317; de 31 a 40 anos: 224; de 41 a 50 anos: 160; de 51 a 60 anos: 82; com mais de 61 anos: 28. A casuística do Centro de Estudos de Bambuí se encontra referida em numerosos trabalhos (Dias, 1945, 1946b, 1950; Dias, Laranja & Nobrega, 1945; Diniz, 1945; Dias & Nobrega, 1946, 1946a; Dias & Laranja, 1948; Dias, Laranja & Pellegrino, 1948, 1950; Laranja, Dias & Nobrega, 1948; Laranja, Dias, Duarte & Pellegrino, 1951).

Torres & Duarte (1948, 1950) descreveram as lesões anatômicas do miocárdio e fizeram um estudo detalhado do feixe de His-Tawara em 1 caso agudo e em dois casos crônicos de miocardite esquizotripanósica. Laranja, Dias, Duarte & Pellegrino (1951) estudaram a correlação anatomo-clínica em 3 casos de miocardite crônica esquizotripanósica cujo diagnóstico, em vida, havia sido firmado em base clínico-sorológica.

VII) — A experiência adquirida em Bambuí, nestes últimos cinco anos, com a realização da reação de fixação do complemento com antígenos de formas de cultura do *S. cruzi*, em indivíduos não selecionados e em casos parasitològicamente confirmados de doença de Chagas, permitiu fôsse enunciado um conceito de fundamental importância médica e epidemiológica: "o diagnóstico de esquizotripanose crônica baseado no quadro clínico da cardiopatia crônica e na positividade da reação de fixação do complemento, convenientemente realizada, repousa em bases seguras" (Laranja, Dias & Nobrega, 1948). A incidência de alterações cardíacas atribuíveis à esquizotripanose crônica e especialmente o quadro eletrocardiográfico, que constitui a característica mais constante, pela freqüência e tipo das modificações observadas, é absolutamente semelhante quando se compara um grupo de indivíduos com esquizotripanose crônica, confirmados pela positividade do xenodiagnóstico, com um outro grupo de indivíduos com reação de fixação do complemento positiva para a doença de Chagas, desde que coincida a freqüência da distribuição das idades nos dois grupos.

Na realização de inquéritos epidemiológicos "pode considerar-se, para fins práticos, que os indivíduos com reação de fixação do complemento positiva têm esquizotripanose e aqueles com essa reação negativa estão livres da infecção. Acrescentem-se ao achado sorológico, os dados epidemiológicos, clínicos e eletrocardiográficos e obter-se-ão critérios razoàvelmente seguros para o diagnóstico da esquizotripanose crônica" (Laranja, Dias, Duarte & Pellegrino, 1951). Êstes mesmos autores acreditam "que a utilização dêstes elementos múltiplos (epidemiológicos, clínicos, eletrocardiográficos e sorológicos) constitui o meio mais conveniente para a realização de inquéritos.

Inquérito baseado em critério clínico-sorológico foi realizado ao longo da linha férrea da Rêde Mineira de Viação, entre as estações de Iguatama e Campos Altos, sede de municípios vizinhos do de Bambuí. A população estudada era constituída por empregados da ferrovia e respectivas famílias. A reação de fixação do complemento para doença de Chagas foi feita no sôro sanguíneo de 334 indivíduos não selecionados, com mais de 5 anos de idade. Foram obtidas reações positivas em 122 sôros (36,5%), negativas em 190 (56,9%) e duvidosas ou impedientes em 22 (6,6%). Assim, excluídos êstes últimos resultados, a reação foi positiva em 39,1% dos sôros de 312 indivíduos. Foi feito um estudo eletrocardiográfico em 280 trabalhadores e familiares, dos quais 104 tinham reação de fixação do complemento positiva para esquizotripanose e 176 tinham esta reação negativa. Nos indivíduos com reação positiva o eletrocardiograma apresentou-se anormal em 34 casos (32,7%) enquanto que em apenas 6 (3,5%) do grupo negativo o traçado evidenciou alterações. No grupo com reação positiva foi muito alta a incidência de distúrbios da condução, estando presentes em 24 dos 34 casos com alterações eletrocardiográficas (73,5%). Dentre os tipos etiológicos de cardiopatia destacou-se, como o mais freqüente, a cardiopatia chagásica crônica (34 casos), que em 29 casos era pura e em 5 casos estava associada a outros fatôres etiológicos. (Dias, Laranja & Pellegrino, 1948, 1950; Laranja, Dias, Duarte & Pellegrino, 1951).

O resultado da reação de fixação do complemento feita com antígenos de cultura do *S. cruzi* por Dias & Pellegrino, em 1.290 indivíduos não selecionados do município de Bambuí, foram dados a conhecer recentemente por Dias (1950). A percentagem média de reações positivas foi de 60,4%; a maior positividade foi verificada em Medeiros (77,0%), distrito do município de Bambuí.

VIII) — Com o abundante material proporcionado pelo Centro de Estudos de Bambuí, Muniz e colaboradores (Muniz & Freitas, 1944, 1944a, 1946; Muniz, 1947, 1950, 1950a; Muniz & Santos, 1950, 1950a) realizaram uma série de pesquisas que trouxeram importantes contribuições ao diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade.

Estudando comparativamente os diversos antígenos até então propostos para a realização da reação de fixação do complemento no diagnóstico da doença de Chagas, Muniz & Freitas (1944) chegaram à conclusão que o antígeno preparado segundo a técnica de Davis, com mertiolato como conservador, "permitindo obter um antígeno de alto poder fixador e estável por um longo período, resolveu o maior impecilho que se antepunha à necessária standardização dessa reação para o emprêgo como técnica de rotina". Igualmente, a fração polissacarídea isolada do *S. cruzi*, quando empregada como antígeno na reação de fixação do complemento "revelou-se de alto valor, pois além de fixar fortemente o complemento quando em presença do amboceptor específico, é inteiramente desprovida de qualquer poder impediente" (Muniz & Freitas, 1944a). Acreditam os citados Autores que a fração polissacarídea, em relação ao antígeno de Davis, "possa trazer reais vantagens" no diagnóstico da doença de Chagas pela reação de fixação do complemento, pois representa "um antígeno purificado de estrutura menos complexa e dotado, não só de alto poder fixador, como desprovido de qualquer poder anti-complementar".

Aplicando no estudo dos protozoários a técnica de Fuller para a extração de polissacarídeos de bactérias, Muniz & Freitas (1944a) isolaram do *S. cruzi* uma fração "soluvel na agua e perfeitamente estavel" e que "se comportou como um ótimo precipitinogeneo", tornando possível "o emprego de uma reação de técnica tão simples como a de precipitina para o diagnóstico das formas agudas e subagudas" da esquizotripanose (Muniz, 1947). Em 33 casos agudos, a reação de precipitina "se mostrou sempre positiva, podendo permanecer muitos vezes assim, no decorrer de um período de trez a quatro meses após o aparecimento dos primeiros sintomas" (Muniz, 1947). Quanto ao emprêgo da reação de precipitina no diagnóstico dos casos crônicos de esquizotripanose "o seu valor decae muito" pois "em 211 casos com essa forma da doença, só 18% deram reações de precipitina positivas, não podendo, por conseguinte, substituir nesse particular a reação de fixação do complemento" (Muniz, 1947).

"No decorrer de ensaios visando simplificar a técnica da hemoaglutinação com o fim de utilizá-la no diagnóstico de casos crônicos da Trypanosomiasis americana", Muniz (1950) "pôde verificar que hemátias dêsses doentes, quando prèviamente adsorvidas com a fração polis-

socarídea do *Schizotrypanum cruzi* e postas em presença dos próprios sôros não inativados, sofriam hemólise". "Ao contrário da hemólse específica decorrente da ação direta de um sensibilizador hemolítico sôbre os componentes do próprio glóbulo, no caso aqui estudado, ela decorre da ação de um sensibilizador específico para a fração adsorvida, que reagindo com ela em presença da alexina, ocasiona a hemólise" (Muniz, 1950). Êste fenômeno, verificado pela primiera vez nos protozoários por Muniz (1950), foi por êle denominado de "hemólise condicionada", e serviu para a elaboração de uma nova reação para o diagnóstico da doença de Chagas (Muniz 1950, 1950a, Muniz & Santos, 1950, 1950a).

IV — TRABALHOS REALIZADOS EM BELO HORIZONTE

Sòmente em 1930, isto é, precisamente 21 anos depois de descoberta a esquizotripanose nos sertões mineiros, foram referidos os primeiros casos desta moléstia em Belo Horizonte, que "pela sua propria situação topographica e pelas circunstancias de ser o centro de convergencia da população de uma grande zona do Estado de Minas Geraes", deveria ter, "em seus hospitaes e na população de seus arredores, casos de Doença de Chagas" (Villela, 1930b). O estudo da esquizotripanose em Minas, fora de Lassance, começou, portanto, com o inquérito realizado por Villela — naquela ocasião professor de patologia geral na Faculdade de Medicina de Belo Horizonte — em vários serviços hospitalares da capital mineira, em 1930. Antes desta data, nenhuma referência, ao que saibamos, se encontra em relação à doença de Chagas nas publicações médicas, nem ao menos como raridade nosológica.

O trabalho publicado por Martins e colaboradores em 1940, registra nova fase para o conhecimento da doença de Chagas em Minas: o início de estudos sistematizados sôbre a distribuição dos triatomíneos transmissores domiciliares em todo o Estado, estudos êstes posteriormente ampliados por Pellegrino. No trabalho de Martins e cols. (1940) acha-se referido um "plano geral para o estudo da tripanosomiase americana em Minas Gerais", feito de acôrdo com as sugestões de Evandro Chagas, superintendente do Serviço de Estudos das Grandes Endemias, do Instituto Oswaldo Cruz. Incluia êste plano, trabalhos de campo e de laboratório. Os primeiros consistiam na realização de várias pesquisas, tais como determinação das espécies de transmissores, seu índice de infecção, realização de xenodiagnósticos em moradores de diversas localidades e em animais silvestres, determinação da incidência de alterações do ritmo cardíaco, pesquisas estas que seriam realizadas nas diferentes zonas do Estado.

Os trabalhos de laboratório incluiam investigações do poder patogênico de amostras de *S. cruzi* de diferentes procedências e a verificação da capacidade de transmissão de cada uma das espécies de "barbeiro". Infelizmente êste plano foi apenas iniciado.

Entre os trabalhos de Villela (1930, 1930a, 1930b,) e o de Martins & cols. (1940), isto é, no primeiro decênio depois de iniciadas as pesquisas

sôbre a esquizotripanose em Belo Horizonte, encontramos referências a esta moléstia nos trabalhos de L. Rodrigues (1930) que estudou, no Instituto Raul Soares, as manifestações da assim chamada forma nervosa crônica da doença de Chagas, de B. Vianna (1931), que procurou demonstrar a existência de zonas de bócio endêmico em Minas Gerais, cuja causa etiológica estaria ligada à deficiência de iôdo e não à infecção pelo *S. cruzi;* no trabalho de Patto (1931) que fêz a reação de "fixação do complemento no bocio endemico" e nas investigações de Ferreira (1937) e Alvarenga (1937) sôbre o megacolon e o cardioespasmo. Cumpre aqui referir que antes do trabalho de Villela, publicado em 1930, Ez. Dias, Libânio & Lisbôa, em estudos que realizaram na filial do Instituto Oswaldo Cruz em Belo Horizonte (Instituto Ezequiel Dias) sôbre os métodos de combate aos escorpiões, citam experiências de laboratório, com diversos inseticidas, contra os transmissores da doença de Chagas (Ez. Dias, Libânio & Lisbôa, 1924).

Depois do trabalho de Martins & cols. (1940), o interêsse para o estudo de diversos aspectos da esquizotripanose acha-se demonstrado nas publicações de Lent & Martins (1940), Martins (1941), Cathoud, (1942), Versiani (1944), Magalhães & Freire (1945, 1945a,) Martins e cols. (1945a, 1946), Peres (1945) e Brasil (1946). Merece especial destaque o trabalho de Brasil (1946) pois nele é incluída, pela primeira vez, a cardiopatia chagásica crônica em casuística de clínica cardiológica particular.

De 1946 para cá, Pellegrino e colaboradores realizaram uma série numerosa de investigações sôbre diversos aspectos da esquizotripanose e, em particular, daqueles relacionados com os transmissores desta doença. A demonstração de que se pode reproduzir no cão experimentalmente infectado com o *S. cruzi* uma cardiopatia crônica com manifestações e alterações eletrocardiográficas semelhantes às que se verificam no homem na fase crônica da doença (Pellegrino, 1946, 1947); o estudo da reação intradérmica e a influência sôbre o eletrocardiograma, da injeção intravenenosa de antígeno de *S. cruzi* em animais com esquizotripanose experimental (Pellegrino, 1946a, 1947b); a observação de falsos resultados positivos quando a reação de fixação do complemento com antígeno de cultura do *S. cruzi* é feita em sôros de leprosos ou em sôros de indivíduos normais conservados por muito tempo (Diniz & Pellegrino, 1948; Pellegrino & Mesquita 1947); a demonstração da elevada incidência da esquizotripanose crônica nos doentes internados na Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte e da freqüência com que nestes doentes ocorrem manifestações cardíacas por ela produzidas (Pellegrino & Borrotchn, 1948); o levantamento epidemiológico dos transmissores domiciliares da esquizotripanose em Minas e a revisão de todos os dados até hoje publicados sôbre êste assunto (Pellegrino, 1948, 1950, 1950c, 1951); o encontro de doadores e candidatos a doadores de sangue com esquizotripanose crônica, evidenciados pela positividade do xenodiagnóstico e da reação de fixação do complemento e a demonstração da importância médico-social decorrente dêste achado (Pellegrino, 1949, 1949a; Pellegrino, Borrotchin, Leite

& Brener, 1951); os estudos sôbre os triatomíneos, citogenética de algumas espécies, parasitismo natural e experimental de ovos dêstes hemípteros pelo microhimenóptero *Telenomus fariai,* mutação observada no *Psammolestes coreodes* (Schreiber & Pellegrino, 1949, 1949a, 1950, 1951; Pellegrino, 1950a, 1950b; Pellegrino & Brener, 1951a); observações sôbre inseticidas e a realização da profilaxia de um foco de esquizotripanose encontrado nas proximidades de Belo Horizonte (Pellegrino, 1947a; Pellegrino & Brener, 1951), tais são, em resumo, as principais contribuições. Neste mesmo período, ou melhor, depois de 1946, a literatura assinala ainda os trabalhos de Magalhães (1947), C. B. Dias (1940), Diniz (1949) e Paprocki (1949).

I) — A pesquisa sistematizada da doença de Chagas em pacientes internados em hospitais de Belo Horizonte, que, de um modo geral, servem não sòmente à capital mineira, mas também a várias zonas do Estado de onde procede grande número de enfermos, foi realizada por Villela (1930), 1930b) e por Pellegrino & Borrotchin (1948). Ambas investigações foram baseadas em critério clínico-sorológico.

Villela praticou a reação de fixação do complemento com antígeno preparado segundo a técnica descrita por Guerreiro & Machado (extratos de órgãos de animais infectados pelo *S. cruzi*) em sôros de 186 indivíduos: pacientes internados na Santa Casa, Institutos Raul Soares e do Radium, Hospitais São Vicente e São Geraldo, e de alguns moradores dos arredores de Belo Horizonte(Santa Quitéria, Brumadinho e Santo Hipólito). Neste inquérito, "a escolha dos indivíduos que forneceram sangue não soffreu selecção rigorosa de previo exame clinico, que indicasse a trypanosomiase provavel". Obteve 53 resultados positivos, o que dá uma percentagem de 29%. Apresenta Villela (1930, 1930a, 1930b) 11 casos de forma cardíaca dos quais fornece breves dados clínicos e documentação eletrocardiográfica. Representam êstes casos as primeiras observações de indivíduos com cardiopatia chagásica crônica depois daquelas referidas nos trabalhos de Lassance. Acentua Villela que as "pesquizas clinicas nos casos chronicos, principalmente de fórma cardiaca, tem escapado não só aos clinicos do nosso interior como aos pesquizadores estrangeiros" e chama a atenção para um conceito de fundamental importância clínico-epidemiológica: "Numa zona de endemia, um doente com alterações circulatorias não valvulares e não arteriaes, com symptomas de myocardite pura, alterações de conductibilidade ou do complexo ventricular, com ausencia de rheumatismo articular, de syphilis, de esclerose, é, com toda probabilidade, affectado de trypanosomiase" (Villela, 1930b).

Recentemente, Pellegrino & Borrotchin (1948) realizaram, na Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, um inquérito sôbre doença de Chagas, com a finalidade de determinar a incidência desta moléstia e especialmente de sua forma cardíaca crônica entre os doentes alí internados. Foram examinados 181 pacientes adultos não selecionados, de acôrdo com o seguinte esquema: a) exame clínico geral e exame minucioso do aparêlho circulatório; b) eletrocardiograma; c) reação de fixação do complemento com antígeno de *S. cruzi;* d) xenodia-

gnóstico e radiografia do coração e vasos da base nos pacientes com reação de fixação do complemento positiva e de portadores de quaisquer tipo de cardiopatia. 20,4% dos pacientes internados na Santa Casa apresentaram provas laboratoriais positivas para a doença de Chagas (reação de fixação do complemento ou xenodiagnóstico) e a esquizotripanose figurou como o principal fator etiológico de cardiopatia. Foram as seguintes as etiologias verificadas em 49 casos de cardiopatia: doença de Chagas (18 casos); arterioesclerose (13 casos); febre reumática (3 casos); cardiopatia congênita (1 caso); côr pulmonale crônico (1 caso). Reveste particular importância êste achado, não sòmente pelo seu alto significado médico-social, como também por representar o primeiro dado estatístico em que a cardiopatia chagásica crônica é considerada num grupo de cardiopatas não selecionados. PELLEGRINO & BORROTCHIN (1948) salientaram que "a reação de fixação do complemento com antígeno de cultura do *S. cruzi* representa o meio mais prático para a realização de inquéritos epidemiológicos sôbre a doença de Chagas, uma vez que não há mais necessidade de se recorrer a provas etiológicas (xenodiagnóstico) para êsses inquéritos pela confiança que inspiram os modernos antígenos de cultura do *S. cruzi*". O problema, planteado desde os trabalhos iniciais de CHAGAS, sôbre a possível etiologia chagásica do megaesôfago (posteriormente também foi incluído o megacolon), foi revisto pelos Autores que acreditam que "os seguintes achados encontrados em indivíduos com megacolon ou megaesôfago — alta percentagem de xenodiagnóstico e de reação de GUERREIRO & MACHADO positiva; superposição qualitativa e quantitativa das alterações eletrocardiográficas às da cardiopatia chagásica crônica — parecem exprimir, em nosso meio, antes uma relação etiológica com a doença de Chagas, apesar de obscura a patogenia, do que uma simples coincidência" (PELLEGRINO & BORROTCHIN, 1948).

II) — O estudo do eletrocardiograma em cães experimentalmente inoculados com o *S. cruzi* foi objeto das publicações de MAGALHÃES & FREIRE (1945) e de PELLEGRINO (1946, 1947).

MAGALHÃES & FREIRE (1945) encontraram em cães novos, na fase aguda da doença, alterações eletrocardiográficas evidenciadas por fibrilação e extrasistoles auriculares, rítmo nodal, extrasistoles ventriculares, desníveis de RS-T, alterações da onda T e aumento da sístole elétrica (QT).

Na fase crônica da moléstia de Chagas experimental no cão, constatou PELLEGRINO (1946, 1947), o aparecimento tardio de alterações eletrocardiográficas semelhantes àquelas encontradas no homem na mesma fase da doença. Dentre seis cães inoculados com amostra de *S. cruzi*, isolada de caso humano de esquizotripanose, observou, em um dêles, após um ano de moléstia, extrasístoles ventriculares e auriculares, alterações da onda P, baixa voltagem do QRS e bloqueio intraventricular, e, em outro animal, curva típica de bloqueio de ramo direito. Um dos cães morreu em insuficiência cardíaca congestiva, com ascite muito pronunciada (PELLEGRINO, 1946, 1947). Estas observações representam a primeira confirmação experimental da validade das descri-

ções clínicas sôbre a cardiopatia chagásica crônica. No capítulo sôbre os trabalhos realizados em Bambuí já nos referimos ao extenso estudo experimental realizado por Laranja, Pellegrino & Dias (1948).

III) — Os dados reunidos por Martins & cols. (1940, 1946) e por Pellegrino (1948, 1950), sôbre a distribuição geográfica dos triatomíneos transmissores da esquizotripanose em Minas, e a determinação dos índices de infecção pelo *S. cruzi* das espécies domiciliares, põem em evidência, pela magnitude da área do Estado onde foi assinalada a presença de transmissores infectados, a extensão e a gravidade do problema da endemia esquizotripanósica entre nós. É interessante referir que tanto as observações feitas por Martins & cols. (1940, 1946) como aquelas feitas por Pellegrino (1948, 1950), e que resultaram na fácil obtenção de dados abundantes (mais de 30.000 transmissores recebidos de tôdas as zonas do Estado), se basearam em material capturado e enviado, em sua grande maioria, por professôres e alunos das escolas primárias do interior do Estado (Martins & cols.) e por militares destacados nos diversos municípios mineiros (Pellegrino).

Assim resume Pellegrino (1951), numa revisão publicada recentemente, os dados sôbre os triatomíneos de Minas Gerais e especialmente aqueles referentes ao *Panstrongylus megistus, Triatoma infestans* e *Triatoma sordida,* que são as espécies domiciliares que têm importância epidemiológica no Estado:

"Foram assinaladas, no Estado de Minas Gerais, 13 espécies de triatomíneos: *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811), *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), *Panstrongylus diasi* Pinto & Lent, 1946, *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773), *Triatoma infestans* (Klug, 1834), *Triatoma maculata* (Erichson, 1848), *Triatoma sordida* (Stal, 1859), *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859), *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, *Triatoma tibiamaculata* (Pinto, 1926), *Triatoma arthurneivai* Lent & Martins, 1940, *Psammolestes coreodes* Bergroth, 1911 e *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 e uma sub-espécie, *Triatoma brasiliensis melanica* Neiva & Lent, 1941. Do total de 42.226 triatomíneos recebidos de tôdas as zonas do Estado, por diversos pesquisadores, 14.110 eram *P. megistus,* 24.473 *T. infestans* e 3.059 *T. sordida.* O restante de 584 exemplares representa o conjunto das demais espécies".

"O *P. megistus* é a espécie mais espalhada, tendo sido assinalada em 174 municípios distribuídos em tôdas as 13 zonas do Estado. O *T. infestans* (espécie predominante nas zonas do Triângulo, Alto Paranaíba, Sul e parte da Zona Oeste) e o *T. sordida,* cuja área de distribuição se superpõe, em grande parte, àquela do *P. megistus* e parece acompanhar as bacias dos grandes rios (Jequitinhonha, São Francisco, Velhas e Grande) foram assinalados em 84 e 68 municípios, respectivamente. Do total de 26.579 triatomíneos examinados para a pesquisa do *S. cruzi* nas dejeções, 7.631 estavam infectados, o que dá uma percentagem média de positividade de 28,71%. Os índices de infecção do *P. megistus, T. infestans* e *T. sordida* pelo *S. cruzi* foram de 33,98 — 28,12 e de 6,63%, respectivamnete" (Pellegrino, 1951).

IV) — O perigo da transmissão da doença de Chagas nos Serviços de Transfusão de Sangue foi amplamente salientado por PELLEGRINO (1949, 1949a,) que demonstrou os primeiros casos de esquizotripanose crônica em doadores e em candidatos a doadores de sangue. Entre nós, também DIAS (1945, 1949a) fêz referência a êste problema.

"Afim de que seja convenientemente eliminada a possibilidade da disseminação da doença de Chagas pelos serviços de transfusão, sugere (PELLEGRINO, 1949) as seguintes medidas: a) a obrigatoriedade da reação de fixação do complemento para o diagnóstico da esquizotripanose, na seleção dos doadores, com a finalidade de excluir todos aqueles que apresentarem reação positiva ou mesmo duvidosa; b) nos lugares onde, por falta de recursos laboratoriais, não fôr possível a realização da reação, o sangue dos candidatos deverá ser enviado para laboratórios onde a mesma possa ser feita; c) nos casos de transfusão urgente e na impossibilidade de realizar provas laboratoriais para a exclusão da doença de Chagas, deverá ser utilizado sòmente sangue de indivíduos que nunca tenham estado expostos à infecção esquizotripanósica" (PELLEGRINO, 1949). É estranhável que nenhuma destas medidas tenha sido posta em prática pelas autoridades responsáveis pela Saúde Pública no Estado, que receberam, desde 1949, comunicação oficial sôbre o encontro, em Belo Horizonte, de doadores com doença de Chagas.

Recentemente, PELLEGRINO, BORROTCHIN, LEITE & BRENER publicaram os resultados de um inquérito feito em 576 indivíduos que se apresentaram ao Banco de Sangue do Hospital do Pronto Socorro de Belo Horizonte, para a prova de seleção de doadores. Em todos êles foi feita a reação de fixação do complemento com antígeno de formas de cultura do *S. cruzi,* para o diagnóstico da doença de Chagas. "Em 14 casos a reação foi positiva. Sete candidatos a doador, com reação positiva, foram estudados clìnicamente, e nêles foi praticado xenodiagnóstico, eletrocardiograma e tele-radiografia do coração e vasos da base. Em todos os 7 casos estudados apurou-se que já haviam habitado casas infestadas por triatomíneos em zonas endêmicas e 3 dêles apresentaram sinais de comprometimento miocárdico, revelando o eletrocardiograma, em dois, bloqueio do ramo direito, e, em um, bloqueio A-V total. Em 3 candidatos conseguiu-se a comprovação parasitológica da infecção chagástica pela positividade do xenodiagnóstico" (PELLEGRINO, BORROTCHIN, LEITE & BRENER, 1951). "Torna-se, pois, indispensável que os serviços de transfusão adotem medidas eficazes no sentido de evitar a propagação artificial de uma infecção tão séria como a chagásica, fato que deve ter ocorrido e que certamente continuará ocorrendo caso não sejam tomadas as devidas providências" (PELLEGRINO, 1949).

V) — Estudos sôbre a citogenética e ecologia dos triatomíneos foram iniciados por SCHREIBER & PELLEGRINO (1949, 1949a, 1950) e estão em desenvolvimento no Instituto de Biologia da Faculdade de Filosofia. "O fim destas pesquisas visa especialmente ilustrar monograficamente a citogenetica destes animais e tentar, com este meio, um aperfeiçoamento dos critérios sistemáticos e biogeográficos, que tanta im-

portancia veem manifestando no estudo da ecologia e da epidemiologia da moléstia de Chagas" (B. PELLEGRINO, 1951).

Recentemente SCHREIBER & PELLEGRINO (1951) publicaram os resultados da análise citológica e cariométrica da ação da colchicina sôbre a espermatogênese dos hemípteros.

PELLEGRINO & BRENER (1951a), descreveram uma mutação observada no *Psammolestes coreodes*.

VI) — Estudos sôbre o *Telenomus fariai*, microhimenóptero parasito de ovos de triatomíneos, foram feitos por PELLEGRINO (1950a, 1950b). Ficou demonstrado que êste parasito pode, experimentalmente, desenvolver-se em ovos de *Triatoma maculata, T. brasiliensis, T. vitticeps* e de *T. rubrovaria* (PELLEGRINO, 1950b). Em condições naturais foram encontrados elevados índices de parasitismo de ovos de *T. infestans* e de *P. megistus* pelo *Telenomus* (PELLEGRINO, 1950a).

VII) — BORROTCHIN (1949) fêz considerações sôbre a importância da gravidez como sobrecarga circulatória nos casos de mulheres com miocardite chagásica crônica. Duas pacientes por êle referidas faleceram, uma 17 dias e outra cêrca de 2 meses após o parto, em síndrome de Adams-Stokes. Foi salientado que "do ponto de vista da gravidez, é importante o diagnóstico quer da cardiopatia potencial quer da cardiopatia franca, pois, naquela a paciente poderá quasi certamente, tolerar ainda a presente e posteriores gestações, sendo já nesta última, a gestação, uma sobrecarga de grande gravidade" (BORROTCHIN, 1949).

VIII) — A realização, em grande escala, da reação de fixação do complemento com antígeno de cultura do *S. cruzi* (antígeno tipo Davis) tem proporcionado, na capital do Estado e em outras zonas do interior, a confirmação de numerosos casos de infecção crônica chagásica, diagnosticados clìnicamente, e facilitado o desenvolvimento de inquéritos sôbre a esquizotripanose. Foram realizadas mais de 7.000 reações (PELLEGRINO & BRENER, 1951b).

Fazendo a reação de fixação do complemento com antígeno de cultura do *S. cruzi*, PELLEGRINO & MESQUITA (1947) observaram "que alguns sôros não contaminados de indivíduos normais, depois de conservados na geladeira em empolas estéreis por algum tempo, podem dar reações duvidosas ou mesmo positivas, quer sejam ou não preservados com mertiolato. Em vista disso, recomendam que a reação de fixação do complemento para doença de Chagas seja feita com sôros recentemente colhidos" (PELLEGRINO & MESQUITA, 1947).

Também pequena percentagem de sôros de leprosos, nas diversas formas da doença, podem dar falsos resultados positivos, empregando-se o antígeno de *S. cruzi* preparado segundo a técnica de DAVIS (DINIZ & PELLEGRINO, 1948).

IX) — Além dos casos de esquizotripanose diagnosticados nos inquéritos realizados por VILLELA (1930, 1930a, 1930b) e PELLEGRINO & BORROTCHIN (1948), já referidos, encontramos na literatura relatados

outros casos, alguns confirmados parasitologicamente ,outros com suspeitas clínicas e com reação de fixação do complemento com antígeno de *S. cruzi* positiva, outros ainda simplesmente suspeitos (L. Rodrigues, 1930; Ferreira, 1937; Alvarenga, 1937; Versiani & Cavalcanti, 1943; Versiani, 1944; Magalhães & Freire, 1945; Martins, Versiani & Tupinambá, 1945a; Brasil, 1946; Diniz & Pellegrino, 1948; Borrotchin, 1949; C. B. Dias, 1949; Diniz, 1949; Pellegrino, 1949, 1949a; Pellegrino & cols., 1951; Pellegrino & Brener, 1951a). Todos êstes casos foram diagnosticados na capital do Estado, mas os doentes se haviam infectado em zonas de endemia esquizotripanósica no interior de Minas.

Estudando, em 1941, a cardiopatia chagásica crônica, Brasil (1946) fêz referência a 14 casos observados em sua clínica particular e chamou atenção para o fato que o "estado geral do paciente é freqüentemente tão bom que não se pode deixar de sentir o contraste entre o que se constata aos exames eletrocardiográficos e radiológicos, e o que experimenta o paciente". Observou também casos com "o coração radiologicamente normal mas eletrocardiográficamente doente" e "exemplos de verdadeira mutabilidade eletrocardiográfica", "sem que o paciente sentisse qualquer distúrbio no seu estado geral ou cardíaco, subjetiva ou objetivamente, salvo no que tange a modificação do ritmo" (Brasil, 1946). Fenômeno semelhante foi também referido por E. Chagas (1928) e Magalhães & Freire (1945a).

Diniz & Pellegrino (1949) e Diniz (1949) acreditam ser muito elevada a incidência da doença de Chagas nos internados em leprocômios de Minas, a despeito do fato de ter sido esta constatação baseada na positividade da reação de fixação do complemento com antígeno de *S. cruzi*. Mesmo levando em consideração os falsos resultados positivos desta reação em casos de infeção leprótica, a percentagem de positividade foi muito maior no grupo de leprosos que referiram antecedentes de contato anterior com triatomíneos. Além disso foram observados pacientes com cardiopatia crônica nos quais sòmente a doença de Chagas poderia ser a causa responsável pelas manifestações clínicas e alterações eletrocardiográficas apresentadas. Nestes casos a reação de fixação do complemento foi sempre positiva.

X) — A profilaxia de um foco de doença de Chagas nas proximidades de Belo Horizonte (Cidade Industrial) foi realizada por Pellegrino & Brener (1951), com a aplicação domiciliar de "gammexane" (isômero gama da hexaclorociclohexana), inseticida de ação residual, e de repelente (piretro). Foram expurgadas 291 residências. O inseticida de ação residual foi empregado sob a forma de pó dispersivel, de modo a deixar 0,5 gr. do isômero ativo por metro quadrado de superfície borrifada. Em um grupo de 24 casas, fortemente infestadas por triatomíneos, foi experimentada a associação de inseticida de ação residual (isômero gama) com repelente (piretro), sendo êste lançado nas paredes sob a forma de pó, logo após a aplicação do inseticida de ação residual. Em tôdas as 291 casas foi feito um segundo expurgo, em condições idênticas ao primeiro, 3 a 4 meses depois. O contrôle da eficiência dos inseticidas foi feito por meio de expurgo de prova com repelen-

te à base de piretro, que tem a propriedade de desalojar prontamente os transmissores dos seus esconderijos, e pela demolição das casas de pior construção para a pesquisa de triatomíneos vivos. Em um grupo de 24 cafuas foi realizado um contrôle rigoroso, sendo anotados diàriamente os triatomíneos encontrados mortos ou afetados em cada casa. Os resultados foram altamente satisfatórios. No grupo referido, foram capturados, na primeira semana que se seguiu ao primeiro expurgo, 1.566 triatomíneos, na segunda semana 367, na terceira 136 e na quarta 25. No segundo mês foram capturados 38 triatomíneos e no terceiro mês apenas 18. Após o segundo expurgo, que se realizou 3 a 4 meses depois do primeiro, foram capturados 11 transmissores, num período de observação de 2 meses. Sòmente 5 triatomíneos foram encontrados nestas casas, depois de expurgadas com repelente, um ano após a primeira aplicação de inseticida de ação residual. Durante a realização dos trabalhos de profilaxia, foram capturados, na Cidade Industrial, 5.530 triatomíneos, dos quais 5.523 eram *T. infestans* e 7 *P. megistus*.

Pellegrino & Brener (1951) são de opinião que o contrôle da doença de Chagas por meio do "gammexane" pode ser alcançado, com absoluta segurança de êxito, nas seguintes bases:

"1) — Duas aplicações, espaçadas pelo intervalo de 3 a 4 meses, utilizando-se o isômero gama na dose de 0,5 gr. por metro quadrado de superfície tratada. Uma das aplicações, de preferência a primeira, deve ser efetuada em época quente do ano, período no qual os transmissores exercem o hematofagismo com maior atividade e, portanto, têm maior probabilidade de entrar em contáto com a superfície recoberta com o inseticida, cuja ação residual ainda perdura. A redução da população de triatomíneos alcançada com o primeiro expurgo é grande, e pode ser reduzida a um nível ainda menor, já sem importância epidemiológica, com o segundo expurgo.

2) — Um expurgo anual de manutenção (0,5 gr. do isômero gama por metro quadrado) realizado no início da estação quente do ano" (Pellegrino & Brener, 1951).

V — TRABALHOS REALIZADOS EM OUTRAS ZONAS DO ESTADO

Além dos trabalhos desenvolvidos em Lassance, Bambuí e Belo Horizonte, pouco ou quase nada foi feito no resto do Estado de Minas com relação à esquizotripanose. Pelo menos é esta a impressão que se tem quando se analisa a literatura publicada. É certo que para a maioria dos médicos que clinicam no interior, em zonas de endemia esquizotripanósica, e que não estão suficientemente esclarecidos quanto à sintomatologia da doença de Chagas, passam desapercebidos inúmeros casos agudos, mesmo aqueles com sinais típicos de porta de entrada da infecção, e número ainda maior de casos crônicos, com manifestações cardíacas. E, quase sempre, nos casos clìnicamente suspeitos, não são realizadas as devidas provas laboratoriais, mesmo as mais simples, para o esclarecimento definitivo do caso. A confirmação dos casos agudos

pelo laboratório é, em geral, simples, e basta o exame de sangue a fresco, entre lâmina e lamínula, com objetiva a sêco de forte aumento, para se firmar o diagnóstico etiológico na maioria dos casos de infecção recente. Acreditamos que mesmo êste método, que em última análise, não passa da mais rudimentar observação microscópica, não está suficientemente difundido entre os médicos que trabalham no interior do Estado. A gota espessa, quando feita com técnica adequada, pode confirmar casos com exame a fresco negativo, e não oferece nenhuma dificuldade o reconhecimento do *S. cruzi*. Já a confirmação laboratorial dos casos clìnicamente suspeitos de infecção crônica (no estado atual dos nossos conhecimentos só podemos incluir aí as manifestações da cardiopatia crônica, pois a existência de nenhuma outra forma foi suficientemente demonstrada), pelos métodos empregados usualmente — reação de fixação do complemento com antígeno de cultura do *S. cruzi* e xenodiagnóstico — requer instalações adequadas, experiência em reações sorológicas ou então a criação de "barbeiros" no laboratório. Quem conhece as dificuldades encontradas pelo médico do nosso interior, especialmente na realização de trabalhos de laboratório, sabe que sòmente em poucas das nossas cidades podem estas provas ser realizadas devidamente. E é precisamente para os casos crônicos, que constituem, no conjunto dos indivíduos infectados, a imensa maioria, que deve estar voltada a atenção do clínico, pois a verdadeira importância médico-social da doença, pelo menos em nosso meio, é melhor avaliada pelas manifestações cardíacas que acarreta em sua fase aguda. Muitas vêzes a falta de um diagnóstico laboratorial comprovatório é motivado mais pela dificuldade material para a realização do mesmo do que pela ausência de esclarecimentos por parte do médico. Êle pensa na doença de Chagas mas não pode contar com o laboratório para confirmar ou infirmar-lhe a suspeita.

Cumpre aqui mostrar a necessidade e a urgência da organização, na Secretaria de Saúde e Assistência, de um departamento técnico destinado a fornecer aos médicos do interior dados epidemiológicos sôbre a esquizotripanose e a facilitar meios para a realização das provas de laboratório necessárias para a elucidação dos casos crônicos suspeitos. Nenhuma dificuldade representaria para tão importante departamento administrativo do Estado a manutenção de uma criação de triatomíneos em larga escala para fornecimento de "barbeiros" destinados ao xenodiagnóstico e de um técnico para a realização da reação de fixação do complemento. Não podemos responsabilizar os médicos do interior de não diagnosticarem casos de doença de Chagas enquanto não lhes facilitarmos os meios para êsse fim. E se as autoridades sanitárias desejarem fazer, como preceitua o regulamento desde 1928, "o censo dos indivíduos portadores da parasitose, detalhando as diversas modalidades clinicas encontradas", é necessário buscar, nos médicos do interior, sempre solícitos para o estudo dos problemas locais de saúde pública, a colaboração necessária e imprescindível. É preciso também incrementar e facilitar a publicação de trabalhos sôbre as observações locais de casos agudos e crônicos de esquizotripanose, convenientemente estudados sob o ponto de vista clínico e devidamente demonstrados

pelos processos de laboratório. Sòmente assim poder-se-á ter uma idéia concreta da difusão real da esquizotripanose no Estado. Inquéritos baseados na realização da reação de fixação do complemento, no eletrocardiograma e no exame clínico sumário de populações não selecionadas de zonas endêmicas fornecerão, sem dúvida, dados substanciais para a avaliação da incidência da cardiopatia crônica nas diferentes zonas atingidas pela endemia.

Além das publicações já citadas nos capítulos sôbre os trabalhos realizados em Lassance, Bambuí e Belo Horizonte, algumas das quais apresentam dados sôbre a esquizotripanose em outros pontos do Estado (Cf. esp. Dias, 1946b; Villela, 1930; Martins e cols. 1945a; Brasil, 1946) relativamente poucas informações encontramos na literatura publicada no Estado e fora dêle, sôbre os transmissores e casos de doença de Chagas além daquelas referidas nas zonas mencionadas (Campos, 1913; Neiva, 1914; Lutz & Machado, 1915; Neiva & Pinto, 1923; Magalhães, 1926; Couto, 1936; Leite, 1939, 1942, 1943; Lopes, 1941; Barros, 1943; Martins e cols., 1945; Dias & Ferreira, 1946; Freitas, 1947; Faria & cols., 1948; Maciel, 1948; Fonseca & cols., 1949; Menezes, 1949, 1950; C. Dias, 1950; Freitas Jor. 1950; Miranda, 1951.) Dêstes trabalhos merecem referência especial o de Martins & cols. (1945), os de Menezes (1949, 1950) e o de Jacomo (1950).

Martins & cols. (1945) realizaram um inquérito epidemiológico no município de Jaboticatubas, tendo examinado 146 pacientes não selecionados. O xenodiagnóstico foi feito em todos os pacientes e resultou positivo em 33 (22,6%); o exame a fresco e a gota espessa feitos em 65 dêsses pacientes deram resultado negativo. Encontraram cães e gatos naturalmente infectados e também tatús (*Dasypus novemcinctus*). Na zona investigada a percentagem de infecção dos transmissores domiciliares (*P. megistus* e *T. sordida*) pelo *S. cruzi* foi de 24,5%.

Menezes (1949, 1950) deu a conhecer os resultados da observação de 50 casos de cardiopatia chagásica crônica em sua clínica particular, em Uberlândia. O eletrocardiograma feito nestes casos evidenciou bloqueio de ramo direito em 22, bloqueio total em 5 e extrasístoles ventriculares em 25. Encontrou elevada freqüência de bloqueio de ramo direito (105 casos) em relação ao de ramo esquerdo (apenas 17 casos) na análise de 1.000 traçados eletrocardiográficos feitos em indivíduos procedentes de diversas regiões do Brasil Central. Sugere que muitos casos de bloqueio de ramo direito sejam devidos à doença de Chagas.

Jacomo (1950) diagnosticou, em seu laboratório particular em Uberaba, 116 casos agudos de doença de Chagas, num período de 2 anos e meio. Todos os casos foram confirmados pelo achado do *S. cruzi* ao exame de sangue a fresco. Pelo que se depreende dos mapas que ilustram o trabalho de Jacomo, a casuística por êle referida não se limita sòmente ao município de Uberada. O exame de sangue a fresco revelou a presença do *S. cruzi* em indivíduos procedentes de outros municípios do Triângulo Mineiro e da zona do Alto Paranaíba (Conceição das Alagoas, Veríssimo, Nova Ponte, Sacramento, Ituiutaba, Frutal, Campo Florido, Santa Juliana, Perdizes, Monte Carmelo, Araxá). A

reação de fixação do complemento feita em 226 indivíduos não selecionados, moradores em zonas rurais do município de Uberaba, foi positiva em 53% (Jacomo, 1950).

VI — PROFILAXIA DA DOENÇA DE CHAGAS EM LARGA ESCALA

Depois das investigações realizadas em Bambuí e Santa Juliana que mostraram a possibilidade do contrôle da doença de Chagas pelo combate aos seus transmissores domiciliares com inseticidas adequados de ação residual (gammexane), associado ou não a repelente (piretro) (Dias & Pellegrino, 1948), e dos trabalhos de profilaxia, que em maior escala se realizam na zona de Uberaba pelo Instituto Oswaldo Cruz, em colaboração com o Serviço Nacional de Malária, vem se desenvolvendo em Minas Gerais nestes dois últimos anos, uma nova e promissora fase: a da aplicação domiciliar, em larga escala, de inseticidas de ação residual.

Os estudos dos diversos meios de contrôle da doença de Chagas, encarados sob o ponto de vista econômico e da possibilidade de sua realização em extensas áreas atingidas pela endemia, acham-se resumidos no trabalho de Pinotti (1950) publicado recentemente:

"Uma das soluções eficientes para o contrôle da enfermidade seria a substituição, nas áreas infestadas, de todos os mocambos, habitações de barro batido, sopapo, taipa ou sapê, por prédios de tijolos bem rebocados, evitando-se, dêsse modo, as frinchas das paredes e das madeiras mal aparelhadas, onde os "barbeiros" vivem e de onde costumam sair à noite para os seus repastos no sangue dos moradores. Êsse processo é, porém, custoso e lento, não só pelo vulto das despesas necessárias, como, ainda, por outras dificuldades, que surgem à primeira e superficial apreciação realista do problema" (Pinotti 1950). "Pensou-se no remendo com barro novo das frinchas das paredes, *habitat* do insecto. Tal método seria, no entanto, impraticável, porque novas rachaduras e frinchas sobreviriam e constituiria um labutar penoso e improdutivo êsse de rebocar interminàvelmente paredes, que interminàvelmente, se punham de novo a rachar e se esboroar. Outra medida eficaz, mas na mesma ordem de impraticabilidade, por muitos e análogos fatôres, seria a vigilância dos poderes municipais contra a construção de residências com barro batido e a exigência de tijolos cozidos e rebôco bem acabado, em quaisquer novas habitações" (Pinotti, 1950). Portanto, diante do "pauperismo rural e outros obstáculos, fàcilmente imagináveis e compreensíveis, num meio como o nosso, caracterizado ainda por extremas precariedades de recursos de tôda ordem", o processo "mais prático e, sob muitos aspectos, o mais econômico é a borrificação das habitações com os inseticidas que se mostrarem mais enérgicos" (Pinotti, 1950).

As experiências desenvolvidas em Uberaba, sob a orientação do Instituto Oswaldo Cruz e do Serviço Nacional de Malária, foram realizadas em 15 localidades. "Depois de cadastradas, tôdas as habitações foram trabalhadas com determinado inseticida, em determinadas con-

dições, permanecendo sob rigorosa observação durante várias semanas, para inspeção diária e recolhimento dos triatomas mortos ou sensibilizados pelo inseticida. As borrificações se repetiam em prazos variáveis nas casas, divididas em grupos e submetidos oportunamente aos "expurgos de prova" para contrôle dos resultados. Dessa forma, em 577 habitações, com 124.412 metros quadrados de paredes e tetos, experimentaram-se, longamente, diversos inseticidas, destacando-se aqueles à base de cloro e tiofosfatos, isolados ou associados ao DDT, em soluções que totalizaram 13.098 litros. As observações dos focos expurgados ainda se estão realizando, não existindo naturalmente dados completos, mas os dados parciais são bastante expressivos, porque mostram enorme queda da população de triatomas nas habitações expurgadas com líquidos inseticidas. Nas semanas seguintes ao primeiro expurgo, constatava-se grande mortandade dos insetos, que vai diminuindo gradualmente pelo espaço de sessenta dias. Observações cuidadosas demonstraram que o fenômeno em vários casos ultrapassa êsse prazo, verificando-se ainda, o extermínio quase total dos barbeiros nos domicílios, submetidos a dois expurgos com inseticida de ação residual".

"Alguns dados estatísticos da mortalidade dos insetos, nos primeiros dias posteriores ao expurgo inicial, são bastante expressivos:

Dias após o expurgo inicial	*Barbeiros mortos*	*Por cento*
8 dias	32.022	79,75
9-16 "	4.560	11,35
17-24 "	2.119	5,28
25-32 "	1.449	3,60
	40.150	99,98

"Os dados globais são significativos — morreram nos quinze fócos mais ou menos 50.000 triatomas e 4.972 foram colhidos em expurgos e capturas isoladas" (Pinotti, 1950; Villela, 1951; dados colhidos de um relatório parcial organizado por Dias, Pinto, Pellegrino & Castro, 1950).

"No estado atual do desenvolvimento dos ensaios, ainda não se podem precisar conclusões definitivas e cabais, sôbre aspectos de importância, particularmente sôbre a eficácia comparada dos diversos inseticidas empregados. Alguns ensinamentos de alto interêsse prático foram, no entanto, obtidos e podem assim ser resumidos:

"Dispõem-se, agora, de técnicas de comprovada eficácia na luta contra os transmissores da doença de Chagas, sendo possível, portanto, realizar simultâneamente, a profilaxia da moléstia de Chagas e da malária, pelo combate aos respectivos vetores. Sòmente com um expurgo, torna-se possível reduzir consideràvelmente o número de barbeiros das casas infestadas, promovendo-se a eliminação quase total dêsses insetos, com a repetição, poucos meses depois do expurgo com inseticida adequado. Não será otimismo esperar a extinção dos insetos nos

domicílios com uma terceira aplicação dentro de igual intervalo. Em face dêsses resultados gerais, e considerando-se a longa duração do ciclo evolutivo dos triatomas, presume-se que o contrôle efetivo da endemia chagásica poderá ser mantido com um expurgo apenas por ano" (PINOTTI, 1950, 1950a).

No dia 7 de maio de 1950 foi oficialmente inaugurada, em Uberaba, a primeira campanha de profilaxia da doença de Chagas, no Brasil, para a realização da qual o Serviço Nacional de Malária mobilizou numeroso pessoal habilitado e grande cópia de material. A região escolhida para o desenvolvimento desta campanha "compreende 123 municípios do Estado de Minas Gerais e 93 do Estado de São Paulo, abrangendo, aproximadamente, uma área de 213.000 quilômetros quadrados, cuja população se eleva cêrca de 3.460.000 habitantes. O número de prédios existentes nessa região deve, segundo as estimativas, girar em tôrno de 710.000, dos quais 200.000 serão tratados, uma vez que, pelo reconhecimentos preliminares realizados, sòmente há indicação dos métodos profiláticos em uma fracção correspondente a 25 ou 30% do seu total" (PINOTTI, 1951). No Estado de Minas os municípios beneficiados pela campanha, que no presente momento se encontra em grande parte realizada (PINTO, 1951), estão situados nas zonas do Triângulo, Alto Paranaíba, Sul e Oeste, isto é, zonas onde o *Triatoma infestans* representa o principal transmissor da esquizotripanose.

No dia 25 de abril do corrente ano, foi celebrado um importante acôrdo entre o Govêrno do Estado de Minas Gerais e o Ministério de Educação e Saúde, para a execução de serviços de combate à malária e à doença de Chagas. Por êste convênio, o Ministério da Educação e Saúde obriga-se a fazer, por intermédio do Serviço Nacional de Malária, a aplicação de inseticida de ação residual em tôda a área malarígena do Estado, realizando para isso cêrca de 200.000 borrifações domiciliares. Nas zonas atingidas pela malária, quando existirem triatomíneos domiciliares, serão utilizados misturas inseticidas que atuam simultâneamente contra os transmissores da malária e da doença de Chagas. Posteriormente será extendida, na medida do possível, a proteção anti-chagásica a outras regiões do Estado onde inquéritos preliminares demonstrarem a existência dos transmissores da esquizotripanose.

VII — RESUMO

O grande impulso que têm tomado, nestes últimos anos, as investigações sôbre a doença de Chagas, não sòmente em Minas Gerais, como também em outros Estados do Brasil e países do novo continente atingidos pela endemia; o interêsse cada vez mais crescente por parte dos médicos em geral e a facilidade com que vêm sendo por êles assimiladas as recentes contribuições ao estudo desta entidade mórbida; a importância médico-social e a repercussão econômica que tem sido atribuída à esquizotripanose como fator de letalidade e de incapacidade relativa ou total para o trabalho, depois de conhecidos os resultados de inquéritos

clínico-epidemiológicos realizados em zonas infestadas por triatomíneos; a recente adoção, por parte das autoridades responsáveis pela saúde pública, de medidas concretas de contrôle da doença pelo combate aos seus transmissores domiciliares, por meio de inseticidas de ação residual aplicados em larga escala; e, principalmente, a escassez de trabalhos de conjunto e de fácil acesso, com referências bibliográficas adequadas e extensas, que facilitassem aos não especializados no assunto, o conhecimento e a consulta das investigações já realizadas sôbre êste importante problema de medicina tropical; tais são os principais motivos que sugeriram a elaboração de um esbôço crítico do desenvolvimento dos trabalhos até agora publicados sôbre a esquizotripanose em Minas Gerais. De fato, foi aí descoberta a nova entidade mórbida do homem, foram aí estudados e esclarecidos problemas relativos à etiologia, epidemiologia, aspectos clínicos e anatomo-patológicos da esquizotripanose, foram aí realizadas investigações experimentais e desenvolvidos métodos de profilaxia, constituindo, em conjunto, os trabalhos realizados sôbre a esquizotripanose em Minas Gerais, fundamentados nos alicerces sólidos legados pelo seu grande descobridor, uma obra verdadeiramente monumental, que tanto orgulha e engrandece a ciência latino-americana.

Os trabalhos publicados sôbre a doença de Chagas em Minas Gerais, compreendendo tôdas as investigações aí realizadas e as contribuições que com material procedente do Estado se realizaram fora dêle, foram divididos em cinco grandes grupos:

1.º) — Trabalhos realizados em Lassance
2.º) — Trabalhos realizados em Bambuí
3.º) — Trabalhos realizados em Belo Horizonte
4.º) — Trabalhos realizados em outras zonas do Estado
5.º) — Profilaxia da doença de Chagas em larga escala.

I) — Os trabalhos realizados em Lassance cobrem um longo período de quase 30 anos, período êsse que vai desde 1909, data da descoberta de um novo tripanosoma e da descrição da nova entidade mórbida do homem feita por Chagas, até 1936, data da publicação de trabalhos de pesquisadores de Manguinhos, apresentados no ano anterior à Nona Reunião da Sociedade Argentina de Patologia Regional convocada em homenagem à memória do grande tropicalista brasileiro Carlos Chagas.

Pràticamente, as pesquisas desenvolvidas em Lassance e os trabalhos realizados com o abundante material que de lá foi canalizado para o Instituto Oswaldo Cruz — investigações condensadas em uma centena de publicações — foram feitas por Chagas e colaboradores durante a vida do descobridor da esquizotripanose. Neste período, Chagas e pesquisadores que, sob sua orientação, trabalharam em Lassance e Manguinhos, descreveram a nova doença nas suas diversas modalidades clínicas, estudaram minuciosamente o seu agente etiológico, a biologia dos transmissores, realizaram investigações experimentais, estudos sôbre a patogenia e anatomia patológica, desenvolveram mé-

todos para o diagnóstico, analizaram o papel dos reservatórios domiciliares e silvestres e mostraram repetidamente a significação social dêste importante problema sanitário "ligado aos mais altos interêsses econômicos e ao aperfeiçoamento progressivo da nossa raça, nas zonas rurais".

II) — As investigações sôbre a doença de Chagas desenvolvidas em Bambuí e municípios vizinhos contribuiram decisivamente para o notável impulso que o estudo desta doença tomou nestes últimos anos. Embora tenha havido uma certa continuidade dos trabalhos que lá foram iniciados desde 1940, as investigações realizadas em Bambuí podem ser divididas em dois grupos. Um primeiro grupo de pesquisas preliminares feitas antes da instalação do Centro de Estudos e Profilaxia da Doença de Chagas, em novembro de 1943, e os trabalhos realizados depois de instalado o referido Centro.

O primeiro grupo de trabalhos representa a primeira contribuição para a casuística da infecção aguda chagásica no Estado, depois das pesquisas feitas em Lassance. A demonstração de numerosos casos agudos de doença de Chagas em Bambuí, sugeriu à direção do Instituto Oswaldo Cruz fôsse lá instalado um Centro de Estudos de modo a facilitar investigações, *in loco,* de vários problemas relacionados com a esquizotripanose.

Uma série de relevantes contribuições de ordem clínica, epidemiológica, laboratorial e profilática resultaram das investigações desenvolvidas por pesquisadores de Manguinhos com o farto material proporcionado pelo Centro de Estudos de Bambuí. Foram de três ordens, as principais contribuições dadas por Bambuí:

a) — A individualização da cardiopatia crônica da doença de Chagas em bases clínicas, anatomo-patológicas, eletrocardiográficas e experimentais; a demonstração de sua grande freqüência nos indivíduos infectados e a verificação de que, em certas zonas rurais, a esquizotripanose figura entre os mais importantes fatôres etiológicos de cardiopatia.

b) — A experiência adquirida com o emprêgo da reação de fixação do complemento feita com antígenos de cultura do *Schizotrypanum cruzi* permitindo uma confirmação rápida e bastante segura dos casos crônicos de esquizotripanose diagnosticados clìnicamente, e possibilitando, quando feita em larga escala, uma avaliação bem aproximada da incidência da doença de Chagas em populações de zonas endêmicas.

c) — A possibilidade da utilização de inseticidas de forte ação letal e de prolongada ação residual para os triatomíneos, em campanhas de profilaxia da doença em larga escala.

III) — Em Belo Horizonte, o interêsse dos pesquisadores e clínicos em geral para o estudo da doença de Chagas, pelo que se depreende da análise bibliográfica, só tardiamente foi despertado, datando de 1930 os primeiros trabalhos. A esquizotripanose foi investigada sob vários aspectos, destacando-se, entre as contribuições principais, os inquéritos realizados em pacientes internados nos Hospitais de Belo Horizonte e

em candidadtos a doadores de sangue; os levantamentos epidemiológicos sôbre a distribuição dos transmissores domiciliares no Estado, e a determinação de seus índices de infecção pelo *S. cruzi;* os estudos sôbre a cardiopatia crônica; a realização de vários trabalhos experimentais e sorológicos; as pesquisas sôbre a citogenética e citosistemática dos triatomíneos e a aplicação dos modernos recursos profiláticos no contrôle de um foco de doença de Chagas situado nas proximidades da capital mineira.

IV) — Nestes últimos anos, o interêsse por parte dos médicos do interior, com relação ao estudo da esquizotripanose como problema médico-social de extensas zonas rurais do nosso Estado, tem-se evidenciado na inclusão da doença de Chagas como tema oficial em numerosos congressos médicos realizados no interior. Infelizmente, o número de publicações sôbre o assunto que, de certo, poderiam trazer elementos de real valor para a avaliação da verdadeira extensão e importância da endemia chagásica, é extremamente pequeno. Destacam-se os trabalhos feitos em Uberlândia e Uberaba.

V) — Em face dos excelentes resultados obtidos em experiências de laboratório e em trabalhos de campo, realizados em Bambuí, Santa Juliana e Uberaba, com inseticidas de ação residual no combate aos transmissores domiciliares da esquizotripanose, o Serviço Nacional de Malária, iniciou, em maio de 1950, a primeira campanha de profilaxia da doença de Chagas, em larga escala, no Brasil. A região escolhida para o desenvolvimento desta campanha compreende 123 municípios do Estado de Minas Gerais e 93 do Estado de São Paulo, abrangendo, aproximadamente, uma área de 213.000 quilômetros quadrados, sendo estimado em 200.000 o número de prédios a serem tratados. Ampliando as atividades, que com crescente êxito vem desenvolvendo o Serviço Nacional de Malária em Minas Gerais, foi celebrado, em abril do corrente ano, um importante convênio com o Govêrno do Estado para a execução de serviços de combate à malária e à doença de Chagas. Serão tratadas com inseticidas de ação residual tôdas as residências infestadas por triatomíneos compreendidas nas zonas malarígenas do Estado. Posteriormente será extendida, na medida do possível, a proteção anti-chagásica a outras regiões do Estado, onde inquéritos preliminares demonstrarem a existência dos transmissores da esquizotripanose.

VIII — CHAGAS'DISEASE IN MINAS GERAES

A critical sudy of the papers published up to 1951

SUMMARY

The critical study of the papers published up to 1951 on Chagas' disease in the State of Minas Geraes (Brazil), was divided into five chapters: 1) Work made in Lassance; 2) Work made in Bambuí;

3) Work made in Belo Horizonte; 4) Work made in other parts of the State; 5) Large-scale prophylaxis of Chagas' disease.

1) The work made in Lassance covers a long period of almost 30 years, from 1909, when a new trypanosoma was discovered and the corresponding disease was described by Chagas, up to 1936. The researches made in Lassance were carried out by Chagas and its co-workers of the Oswaldo Cruz Institute. During this period they described the various clinical features of the new disease, made a detailed study of its agent and the biology of the transmitting insects, and experiments and studies on the pathogeny and pathology of the disease; they developed diagnostic methods, analysed the role of domiciliary and wild reservoirs, and insistently showed the social significance of this sanitary problem.

2) The research work made on Chagas' disease in Bambuí contributed decisively for the growing interest on the study of this disease during the last few years. Although the work in Bambuí was carried out continuously since its beginning in 1940, the researches may be divided into two groups, namely the preliminary made before the installation in the mentioned city of the Center for the Study and Prophylaxis of Chagas' Disease in November 1943, and the work done after the installation of the Center.

The first group represents the first contribution after the researches carried out in Lassance, towards a formal study of acute cases of Chagas' disease in the State .The finding of numerous acute cases at Bambuí led the direction of the Oswaldo Cruz Institute to create a Center of Studies in that city.

An outstanding contribution on the clinical, epidemiological and prophylactic fields was brought about by investigators of Manguinhos with the abundant material supplied by the Bambuí Center. The chief contributions from Bambuí were of three kinds:

a) The individualization of the chronic Chagas' heart disease on clinical, anatomo-pathological, electrocardiographic and experimental basis; the demonstration of its great frequency in infected individuals and the verification that in certain rural areas schizotrypanosis is one of the most important etiological factors of heart disease.

b) The experience acquired with the use of the complement fixation reaction with antigens of cultures of *Schizotripanum cruzi* allowing a rapid and safe confirmation of chronic cases of schizotrypanosis. The reaction, if done in a large-scale, make it possible to get a fairly accurate idea on the incidence of Chagas' disease in endemic areas.

c) The possibility of performing prophylactic campaigns by using proper residually acting insecticides.

3) — An examination of the literature on the subject shows a delayed interest of scientifc investigators and clinicians of Belo Horizonte on the study of Chagas' disease, since the first papers are dated 1930. Schizotrypanosis was studied under its various aspects, and among the principal contributions the following may be mentioned: the investigations carried out among patients and blood-donors in

some hospitals of Belo Horizonte; the epidemiological data about the geographical distribution of domiciliary vectors of the disease; research work on chronic Chagas' cardiopathy; various experimental and serological studies; researches on the cytogenetics of triatomids and the application of modern prophylactic methods in controlling a focus of Chagas' disease near Belo Horizonte.

4) During recent years the interest of doctors in the interior of the State concerning the study of schizotrypanosis as a medico-social problem affecting extensive rural areas of Minas Geraes has been shown by the increasing discussion on Chagas' disease at numerous medical congresses held in the interior. Unfortunately there is only extremely small number of publications on this subject. An special reference must be made to the work done at Uberlandia and Uberaba.

5) In view of the excellent results obtained in laboratory and field experiments carried out in Bambuí, Santa Juliana and Uberaba, with the use of residually acting insecticides against the domiciliary vectors of schizotrypanosis, the National Malaria Service started, in May 1950, the first large-scale prophylactic campaign in Brazil. The region chosen for carrying out the campaign includes 123 counties in Minas Geraes and 93 in São Paulo, an area of approximately 213,000 square kilometers with an estimated number of 200,000 houses to be treated. An important agreement between the Minas State Government and the National Malaria Service was made in April 1951 for the prophylaxis of malaria and Chagas' disease. All the houses infested with triatomids in the malarial districts of the State will be treated with residually acting insecticides. Later, and as far as possible, anti-Chagas protection will be extended to other regions in the State where preliminary inquiries show the existence of insect vectors of schizotrypanosis.

IX — BIBLIOGRAFIA

ALVARENGA, A. M.

1937. Cardioespasmo (Mal de engasgo). Tese. Imp. Oficial E. Minas Gerais. 61 pp.

AUSTREGESILO, A.

1927. Formes nerveuses de la maladie de Chagas. Revue Neurologique, 1 : 1-4.

AZEVEDO, A. P.

1933. Histologia pathologica da glandula thyreoide na forma aguda da molestia de Chagas (Trypanosomiase americana). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 27 (2) : 93-122.

BARROS, R. A.

1943. Um caso de forma aguda de molestia de Chagas. Brasil Medico, 57 : 332.

BORROTCHIN, M.

1949. Cardiopatia da doença de Chagas na gravidez. Rev. Ginecol. & Obst. 43 (1) : 34-38.

BRASIL, A.
1946. Forma cardíaca crônica da doença de Chagas. O Hospital, 29 (2) : 199-224.

BRUMPT, E.
1914. Le xénodiagnostique. Application au diagnostic de quelques inféctions parasitaires et en particulier á la trypanosomose de Chagas. Bull. Soc. Path. Exot., 7 : 706.

BRUMPT, E. & GOMES, J. F.
1914. Descripção de uma espécie de Triatoma (*T. chagasi*) hospedeiro primitivo do *Trypanosoma cruzi* Chagas. Collect. Trab. Inst. Butantan, 1 910-1 917 : 251-255.

CAMPOS, M.
1913. Notas do interior do Brasil (do Rio de Janeiro a Cuyabá, via Goyaz). Brasil Medico, 27 (12) : 111-116.

CARVALHEIRO DIAS, J.
1950. A cardiopatia crônica da moléstia de Chagas. Res. Clin. Cient. (S. Paulo), 19 (1) : 9-17 e 19 (2) : 53-61.

CATHOUD, A.
1942. Pericia medica nos seguros de vida. Minas Med., 10 (51) : 159-166.

CHAGAS, C.
1909. Neue Trypanosomen. Vorläufige Mitteilung. Arch. f. Schiffs.-u. Tropenhyg., 13 (4) : 120-122.

CHAGAS, C.
1909a. Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Arch. f. Schiffs.-u. Tropenhyg., 13 : 351-353.

CHAGAS, C.
1909b. Nova especie morbida do homem, produzida por um trypanosoma (*Trypanosoma cruzi*). Nota prévia. Brasil Médico, 23 (16) : 161.

CHAGAS, C.
1909c. Uma nova trypanosomiase humana. Brasil Medico, 23 : 175-176.

CHAGAS, C.
1909d. Nouvelle espèce de trypanosomiase humaine. Bull. Soc. Path. Exot., 2 (6) : 304-307.

CHAGAS, C.
1909e. Nova tripanozomiase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do Schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp., ajente etiolojico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1 (2) : 159-218.

CHAGAS, C.
1910. Sobre a tiologia do bocio endemico no Estado de Minas Gerais. Brasil Medico, 24 (17) : 163.

CHAGAS, C.
1910a. Aspecto clinico geral da nova entidade morbida produzida pelo *Shizotrypanum cruzi*. Nota previa. Brasil Medico, 24 (27) : 263-265.

CHAGAS, C.

1910b. Nova entidade morbida do homem. Conferência realizada na Academia Nacional de Medicina, a 26 de outubro de 1910, por ocasião da posse do A.. Brasil Medico, 24 (43) : 423-428.

CHAGAS, C.

1910c. Nova entidade morbida do homem (Cont.). Forma cronica. Modalidade pseudo-mixedematosa. Forma mixedematosa. Forma nervosa. Brasil Médico, 24 (44) : 433-437.

CHAGAS, C.

1910d. Nova entidade morbida do homem (Concl.). Forma cardiaca. Brasil Medico, 24 (45) : 443-447.

CHAGAS, C.

1911. Nova entidade morbida do homem. Resumo geral de estudos etiologicos e clinicos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 3 (2) : 219-275.

CHAGAS, C.

1911a. Molestia de Carlos Chagas ou Thyreoidite parasitaria. Nova doença humana transmitida pelo *barbeiro* (Conorhinus megistus). Segunda conferência na Academia Nacional de Medicina. (agosto de 1911). Typ. Leuzinger, Rio 28 pp.

CHAGAS, C.

1911b. Conferência realizada na Associação Medico-Cirurgica de Minas Gerais, em 30 de julho. Minas Geraes, 20 (213) : 1-6.

CHAGAS, C.

1912. Sôbre um trypanosoma do tatú, *Tatusia novemcincta*, transmitido pelo *Triatoma geniculata* Latr. (1811). Possibilidade de ser o tatú um depositário do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior. Brasil Medico, 26 (30) : 305-306.

CHAGAS, C.

1912a. O mal de Chagas. Arch. da Soc. de Med. Cir. S. Paulo, 3 (9-10) : 24-66.

CHAGAS, C.

1913. Les formes nerveuses d'une nouvelle Trypanosomiase. Nouvelle Iconographie de la Salpetrière, 1 : 1-8.

CHAGAS, C.

1916. Processos patojenicos da tripanozomiase americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 8 (2) : 7-36.

CHAGAS, C.

1916a. Tripanosomiase Americana. Forma aguda da molestia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 8 (2) : 37-60.

CHAGAS, C.

1916b. Aspectos clínicos y anátomo-patológicos de la tripanosomiasis americana. Prensa Med. Argent., 10 out., separado.

CHAGAS, C.

1918. Trypanosomiase Americana. Synonimia: Doença do barbeiro. Revista do Brasil (S. Paulo), separado com 33 pp.

CHAGAS, C.
1920. Clinical and anatomo-pathological aspects of American Trypanosomiasis. New Orleans Med. Sci. Jour., 72 (11) : 630-660.

CHAGAS, C.
1920a. (?) Cardiac form of American Trypanosomiasis. Folheto com 25 pp.

CHAGAS, C.
1920b. (?) American Trypanomiasis. Study of the parasite and of the transmitting insect. Folheto com 30 pp.

CHAGAS, C.
1920c. (?) Résumé of the etiology and clinical aspects of American Trypanosomiasis. Folheto com 23 pp.

CHAGAS, C.
1922. Descoberta do Trypanozoma cruzi e verificação da Tripanozomiase Americana. Retrospecto historico. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 15 : 67-76.

CHAGAS, C.
1925. Amerikanische Trypanosomiasis (Chagas'sche Kankheit). Klinische Betrachtungen. Folheto com 14 pp.

CHAGAS, C.
1925a. Einige Ausdrucksformen der Amerikanischen Trypanosomiasis (Chagas-Krankheit). Folheto com 9 pp.

CHAGAS, C.
1926. Quelques aspects de la Trypanosomiase Américaine. Rev. d'Hyg., 48 : 694-702.

CHAGAS, C.
1928. A forma cardiaca da trypanosomiase americana. Arch. Brasil. Med., 18 : 46-56.

CHAGAS, C.
1928a. Sur les altérations du coeur dans la Trypanosomiase Américaine (Maladie de Chagas). Arch. Mal. du Coeur, 21 (10) : 641-655.

CHAGAS, C.
1934. Estado actual da trypanosomiase Americana. Rev. de Biol. e Hig., 5 (2) : 58-64.

CHAGAS, C. & CHAGAS, E.
1935. Manual de doenças tropicais e infectuosas. I — Parte geral. Doenças produzidas por protozoarios. Doenças produzidas por espirochetas e espirillos. Almanak Laemmert, Rio. 192 pp.

CHAGAS, C. & VILLELA, E.
1922. Forma cardiaca da trypanosomiase americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 14 : 5-61.

CHAGAS, C. & VILLELA, E.
1923. Forme cardiaque de la Trypanosomiase Américaine. Rio de Janeiro. 27 pp.

CHAGAS, E.
1928. Sobre algumas perturbações curiosas do rythmo do coração na trypanosomiase americana. A Folha Medica, 9 : 149; 9 : 187; 9 : 201.

CHAGAS, E.
1930. Forma cardiaca da Trypanosomiase Americana. Tese. Paulo Pongetti & Cia. Rio. 39 pp.

CHAGAS, E.
1930a. Estudo electro-cardiographico na forma cardiaca da trypanosimiase americana. A Folha Medica, 11 (9) : 97-99; 11 (10) : 113-115; 11 (14) : 159-160.

CHAGAS, E.
1931. Forma cardiaca da Trypanosomiase Americana. O Hospital, 3 (4) : 215.

CHAGAS, E.
1932. Novos estudos sobre a forma cardiaca da Trypanosomiase Americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 26 (3) : 329-338.

CHAGAS, E.
1935. Summula dos conhecimentos actuaes sobre a trypanosomiasis americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 30 (3) : 387-416.

CHAGAS, E.
1936. Revisão dos processos pathogenicos da trypanosomiase americana. Nov. Reun. Soc. Argent. Pat. Reg., Mendoza, 1 : 1-19.

CHAGAS, E.
1936a. Comentario sobre a vida e a obra de Carlos Chagas. Nov. Reun. Soc. Arg. Pat. Reg., 1 : 120-135.

CHAGAS, E.
1936b. Infecção experimental do homem pelo *Schizotrypanum cruzi*. Nov. Reun. Soc. Arg. Pat. Reg., 1 : 136-159.

CHVES, L.
1915. Processos distroficos na molestia de Carlos Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 7 (2) : 200-212.

COUTO FILHO, M.
1936. Lesões do sistema especifico do miocardio num caso de tripanosomiase americana. O Hospital, 8 (11) : 1 223-1 227.

CROWELL, B. C.
1923. The acute form of american trypanosomiasis: notes on its pathology, with autopsy report and observations on trypanosomiasis in animals. Am. J. Trop. Med., 3 : 425-454.

DIAS, C. B.
1949. Quimioterapia antimonial na esquistossomose mansônica. Rev. Serv. Esp. Saude Publ., 4 (1) : 7-351.

DIAS, E.
1933. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Tese de doutoramento. Rio de Janeiro, 115 pp.

DIAS, E.
1934. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 28 (1) : 1-110.

DIAS, E.
1934a. Persistence de l'infection par le *Schizotrypanum cruzi* chez l'homme. Comp. Rend. Soc. Biol., 117 : 506-507.

DIAS, E.
1935. Le xenodiagnostic appliqué à la trypanosomiase américaine. Comp. Rend. Soc. Biol., 118- : 287-289.

DIAS, E.
1936. Revisão geral dos hemoflagelados de Chirópteros. Nov. Reun. Soc. Arg. Pat. Reg., 1 : 10-88.

DIAS, E.
1936a. Xenodiagnostico e algumas verificações epidemiologicas na molestia de Chagas. Nov. Reun. Soc. Argent. Pat. Reg. (Mendoza), 1 : 89-119.

DIAS, E.
1938. Persistence de l'infetcion par le *Schizotrypanum cruzi* chez l'homme. Xenodiagnostics positifs dans deux cas, 16 ans après l'isolement. Comp. Rend. Soc. Biol., 129 (27) : 430-432.

DIAS, E.
1942. Apêlo aos clínicos do interior para a colaboração no estudo da doença de Chagas. O Hospital, 21 (6) : 291-926.

DIAS, E.
1944. Doença de Chagas. Noções. Serviço Nacional de Educação Sanitária. Folheto com 16 pp.

DIAS, E.
1945. Um ensaio de profilaxia de molestia de Chagas. Imprensa Nacional. Rio, 116 pp.

DIAS, E.
1946. Profilaxia da doença de Chagas. Resumo das principais atividades do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí, Minas Gerais, durante dois anos. Brasil Medico, 60 (18-19) : 161-163.

DIAS, E.
1946a. O "barbeiro" e a doença de Chagas. Carlos Chagas e a sua grande descoberta de uma nova doença humana. Eu Sei Tudo (Rio), 30 (4) : 43-50.

DIAS, E.
1946b. Acerca de 254 casos de doença de Chagas comprovados em Minas Gerais. Brasil Medico, 60 (5-6) : 41-44.

DIAS, E.
1947. Doença de Chagas: um grande problema de Saúde Pública. Brasil Medico, 61 : 162-164.

DIAS, E.
1948. Importância continental da Doença de Chagas. Brasil Medico, 62 (23-24) : 217-219.

DIAS, E.
1948a. Controle das doenças transmitidas pelos triatomas. Bol. Ofic. Sanit. Panam., 27 : 1 160-1 164.

DIAS, E.
1949. Considerações sôbre a importância da moléstia de Chagas em Minas Gerais e Estados vizinhos. Necessidade urgente de ser desenvolvido o estudo dessa endemia e de serem tomadas medidas para combatê-la. Brasil Medico, 63 (34-35) : 217-220.

DIAS, E.
1949a. Os riscos da propagação da doença de Chagas pelos serviços de transfusão de sangue. Bol. Ofic. Sanit. Panam., 28 (9) : 910-911.

DIAS, E.
1949b. Informação pessoal.

DIAS, E.
1950. Considerações sôbre a doença de Chagas. O Hospital, 37 (2) : 253-258.

DIAS, E.
1951. Comunicação pessoal.

DIAS, E. & FERREIRA, L. B.
1946. Doença de Chagas em São João Batista do Glória, oeste de Minas Gerais. Brasil Medico, 60 : 83-85.

DIAS, E. & LARANJA, F. S.
1948. Chagas' disease and its control. Fourth Int. Congr. Trop. Med. & Malaria. Washington, 1948. Proceedings, 2 : 1 159-1 167.

DIAS, E. LARANJA, F. S. & NOBREGA, G.
1945. Doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 43 (3) : 495-582.

DIAS, E., LARANJA, F. S. & NOBREGA, G.
1948. Clinica y terapeutica de la enfermedad de Chagas. Medicina, Rev. Mexicana, 28 (557) : 224-236.

DIAS, E. & NOBREGA, G.
1946. Um caso mortal de doença de Chagas complicado de noma. Brasil Medico, 60 (20-21) : 179-182.

DIAS, E. & NOBREGA, G.
1946a. Três casos agudos de doença de Chagas observados em Bambuí — Minas Gerais. Arquivos de Clinica (Rio), 2 (1) : 54-56.

DIAS, E., LARANJA, F. S. & PELLEGRINO, J.
1948. Estudos sôbre a importância social da doença de Chagas. I — Inquérito clínico-epidemiológico nas vizinhanças de Bambuí, oeste de Minas. Brasil Medico, 62 : 412-413.

DIAS, E., LARANJA, F. S. & PELLEGRINO, J.
1950. Inquérito clínico-epidemiológico sôbre doença de Chagas feito entre as estações de Iguatama e Campos Altos, oeste de Minas Gerais. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. de Chagas, Tucumán. 1 : 33-34.

DIAS, E. & PELLEGRINO, J.
1948. Alguns ensaios com o "Gammexane" no combate aos transmissores da doença de Chagas. Brasil Medico, 62 : 185-191.

DIAS, E., PINTO, O. S., PELLEGRINO, J. & CASTRO, J. A.
1950. Resumo dos trabalhos sôbre profilaxia da Moléstia de Chagas em Uberaba. Relatório parcial (não publicado).

DIAS, EZ.
1912. Molestia de Carlos Chagas. Estudos hematologicos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 4 (1) : 34-61.

DIAS, EZ., LIBANIO, S. & LISBÔA, M.
1924. Lucta contra os escorpiões. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 17 : 5-26.

DINIZ, O.

1945. Aspecto dermatológico de um chagoma de inoculação. Brasil Medico, 59 (33-34) : 297-298.

DINIZ, O.

1949. Lepra e doença de Chagas. Arq. Min. Leprol., 9 (3) : 156-171.

DINIZ, O., PELLEGRINO, J.

1948. A reação de fixação do complemento com antígeno de cultura do *Schizotrypanum cruzi* em sôros de leprosos. Arq. Min. Leprologia, 8 (2) : 111-120.

FARIA, R., VASCONCELLOS, F. & ROSENFELD, G.

1948. Contribuição ao estudo da doença de Chagas na 2.ª Região Militar. Rev. Med. Militar, 37 (2) : 229-250.

FERREIRA, B.

1937. Megacolon. Etiopatogenia e terapeutica. Graph. Queiroz Breyner. Belo Horizonte. 71 pp.

FONSECA, R. B., SCHLESSINGER, P. & LISBÔA, A. M.

1949. Cardiopatia crônica na doença de Chagas. Considerações em torno de cinco casos estudados no Distrito Federal. Arquivos de Clinica, 8 (1-2) : 32-47.

FREITAS, J. L. P.

1947. Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por processos de laboratório. Tese. S. Paulo. 160 pp.

FREITAS JUNIOR, S. V.

1950. Megacolo e megaesôfago no Brasil Central. Res. Clinico-Cientifica (S. Paulo), 19 (11) : 411-423.

GUERREIRO, C.

1912. Observações urolojicas na molestia de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 4 (1) : 66-74.

GUERREIRO, C. & MACHADO, A.

1913. Da reação de Bordet-Gengou na molestia de Carlos Chagas como elemento de diagnóstico. Brasil Medico, 23 : 225.

JACOMO, R.

1950. Doença de Chagas em Uberaba. Rev. da Soc. Med. Cir. Uberaba, 1 (1) : 38-45.

KELSER, R. A.

1936. A complement fixation test for Chagas' disease employing an artificial culture antigen. Am. J. Trop. Med., 16 (4) : 405-415 .

LACORTE, J. G.

1926. A reação do desvio do complemento na molestia de Chagas. Tese. Tip. do Inst. Oswaldo Cruz. Rio. 49 pp.

LARANJA, F. S.

1949. Evolução dos conhecimentos sôbre a cardiopatia da moléstia de Chagas: revisão crítica da literatura. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 47 : 604-670.

LARANJA, F. S., DIAS, E. & NOBREGA, G.
1948. Clínica e terapeutica da doença de Chagas. Rev. Brasil Med., 5 : 591-596; 5 : 672-681; 5 : 738-749. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 46 (2) : 473-529.

LARANJA, F. S., DIAS, E. & NOBREGA, G.
1948a. O eletrocardiograma na cardiopatia crônica da doença de Chagas. Brasil Medico, 62 (8-9) : 51-53.

LARANJA, F. S., DIAS, E. & NOBREGA, G.
1948b. O eletrocardiograma na cardiopatia cronica da doença de Chagas. Sumario e conclusões. Mem. Seg. Congr. Interam. Cardiol. Mexico. 3 : 1 470-1 476.

LARANJA, F. S., DIAS, E., DUARTE, E. & PELLEGRINO, J.
1951. Observações clínicas e epidemiológicas sôbre a moléstia de Chagas no oeste de Minas Gerais. O Hospital, em publicação.

LARANJA, F. S., DIAS, E. & PELLEGRINO, J.
1950. Chagas' heart disease: a cardiological entity. Ier. Congrès Mondial de Cardiologie. Paris, set. 1950. Communications. pag. 302-303.

LARANJA, F. S., PELLEGRINO, J. & DIAS, E.
1948. Experimental Chagas' Heart Disease. Third Interam. Cardiol. Congr. Chicago. Proceedings: 50.

LASMAR, J. E.
1944. Casos agudos de Doença de Chagas em Bambuí, oeste de Minas Gerais. Brasil Medico, 58 (23-24) : 232-233.

LEITE, A. L.
1939. Doença de Chagas e bocio endemico. Brasil Medico, 53 (46) : 1 031-1 033.

LEITE, A. L.
1942. Bócio endêmico e doença de Chagas. O Hospital, 21 (6) : 817-832.

LEITE, A. L.
1943. O bócio endêmico em Minas Gerais. Um ensaio de prevenção pelo iôdo. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 38 (1) : 1-20.

LENT, H.
1935. Sobre a biologia, systematica e distribuição geographica do *Psammolestes coreodes* Bergroth, 1911, encontrado em ninhos de aves do Brasil. (Hem. Triatomidae). Rev. de Entomol., 5 (4) : 381-396.

LENT, H. & MARTINS, A. V.
1940. Estudo sôbre os triatomídeos de Minas Gerais, com descrição de uma espécie nova. Rev. Entomol. (Rio), 1 (3) : 877-886.

LIMA, A. C.
1927. Nota sobre o *Telenomus fariai* novo scelionideo, parasito endophago dos ovos de *Triatoma megista* (Burm.). Sciencia Medica, 51 (1) : 450-452.

LIMA, A. C.
1928. Notas sobre a biologia do *Telenomus fariai* Lima, parasito dos ovos de *Triatoma*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 21 (1) : 201-218.

LIMA, A. C.

1934. Sur l'existence, au Brésil, de *Psammolestes coreodes* Bergr. (Hemiptera, Reduviidae). Comp. Rend. Soc. Biol., 116 : 1 155-1 156.

LOPES, C. F.

1941. Diagnostico da molestia de Chagas pelo medico do interior. Registro de dois casos cronicos revelados pelo xenodiagnostico. Minas Medica, 8 (47) : 244-258.

LUTZ, A. & MACHADO, A.

1915. Viajem pelo Rio S. Francisco e por alguns dos afluentes entre Pirapora e Joazeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 7 : 5-50.

MACIEL, P.

1948. Nota sôbre a provavel etiologia chagásica do mal de engasgo. Rev. Paul. Med., 33 : 94-96.

MAGALHÃES, B. F. & FREIRE, S. A.

1945. O eletrocardiograma na doença de Chagas experimental. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 42 (1) : 243-261.

MAGALHÃES, B. & FREIRE, S. A.

1945a. Um aspecto eletrocardiográfico da doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 43 (2) : 287-299.

MAGALHÃES, O.

1926. Estudo nas aguas do Araxá. Com. Melhoramentos S. Paulo. 69 pp.

MAGALHÃES, O.

1947. Importância social da doença de Chagas. O Hospital, 31 (1) : 9-19.

MARTINS, A. V.

1941. Infecção experimental do "Triatoma arthurneivai" LENT e MARTINS, 1940, pelo "Schizotrypanum cruzi". Brasil Medico, 55 (9) : 131.

MARTINS, A. V. & TUPINAMBÁ, A.

1940. Sobre dois casos agudos de molestia de Chagas observados em Minas Gerais, Brasil. Brasil Medico, 54 (51) : 839-841.

MARTINS, A. V. & COLS.

1940. Sobre 25 casos agudos de molestia de Chagas observados em Minas Gerais. Mem. Inst. Ezequiel Dias, 3-4 : 5-70.

MARTINS, A. V., VERSIANI, V. & PERES, J. N.

1946. Distribuição geográfica dos triatomídeos e seus índices de infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* no Estado de Minas Gerais. Trab. apres. ao I Congr. Interamericano de Medicina. Rio, set. 1946.

MARTINS, A. V., VERSIANI, V. & TUPINAMBÁ, A.

1940. Estudos sôbre a tripanosomiase americana em Minas Gerais, Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 35 (2) : 285-301.

MARTINS, A. V., VERSIANI, V. & TUPINAMBÁ, A.

1945. Estudos sôbre a moléstia de Chagas no Estado de Minas Gerais. I — Estudo epidemiológico de um foco da moléstia no município de Jaboticatubas. Arq. Inst. Quimico-Biologico Est. Minas Gerasi, 1 : 51-70.

MARTINS, A. V., VERSIANI, V. & TUPINAMBÁ, A.

1945a. Estudos sôbre a moléstia de Chagas no Estado de Minas Gerais. II — Sôbre 156 xenodiagnósticos feitos em Belo Horizonte. Arq. Inst. Quimico-Biológico Est. Minas Gerais, 1 : 63-70.

MENEZES, M.

1949. Miocardite chagásica crônica. Sua incidência no Brasil Central. O Hospital, 36 (4) : 577-587.

MENEZES, M.

1950. Considerações sôbre 50 casos de cardiopatia chagásica crônica no Brasil Central. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. de Chagas, Tucumán, 1 : 41-43.

MIRANDA, J. R.

1951. Dados sôbre a moléstia de Chagas no municíipo de Córrego Danta (Oeste de Minas Gerais). Rev. Assoc. Medica Minas Gerais, em publicação.

MOREIRA, J. V. C.

1925. A forma nervosa da molestia de Chagas. Tese. Pap. Rio Branco. Rio. 124 pp.

MUNIZ, J.

1930. Del uso del antígeno "Watson" (*Trypanosoma equiperdum*) en la reacción de desviación del complemento en la enfermedad de Chagas. V Reun. Soc. Argent. Pat. Reg. Norte., 879-901.

MUNIZ, J.

1947. Do valor da reação de precipitina no diagnóstico das formas agudas e sub-agudas da Doença de Chagas (Trypanosomiasis Americana). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 45 (3) : 537-550.

MUNIZ, J.

1950. Comportamento de hemátias sensibilizadas com a fração polissacarídea do *Schizotrypanum cruzi* quando em presença de soros específicos, "Hemolise Condicionada", um caso particular dentro das reações de imunidade. O Hospital, 37 (2) : 199-205.

MUNIZ, J.

1950a. On the value of "conditioned hemolysis" for the diagnosis of American Trypanosomiasis. O Hospital, 37 (5) : 685-691.

MUNIZ, J. & FREITAS, G.

1944. Contribuição para o diagnóstico da Doença de Chagas pelas reações de imunidade. I — Estudo comparativo entre as reações de aglutinação e de fixação do complemento. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 41 (2) : 303-333.

MUNIZ, J. & FREITAS, G.

1944a. Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. II — Isolamento de polissacarídeos de "Schizotrypanum cruzi" e de outros Tripanosomídeos, seu comportamento nas reações de precipitação, de fixação do complemento e de hipersensibilidade. Rev. Brasil. Biol., 4 (4) : 421-438.

MUNIZ, J. & FREITAS, G.

1946. Estudos sobre a imunidade humoral na doença de Chagas. Brasil Medico, 60 (42-43) : 337-341.

MUNIZ, J. & SANTOS, M. C. F.
1950. Heterophile antibodies in American Trypanosomiasis. The presence of heterogenetic components in the antigenic structure of the *Schizotrypanum cruzi* shown by "conditioned hemolysis" reaction. O Hospital, 37 (4) : 601-616.

MUNIZ, J. & SANTOS, M. C. F.
1950a. Technic of "conditioned hemolysis" applied in the diagnosis of American Trypanosomiasis. O Hospital, 38 (4) : 617-620.

NEIVA, A.
1910. Informações sobre a biologia do Conorhinus megistus Burm. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 2 (2) : 206-212.

NEIVA, A.
1913. Da transmissão do *Trypanosoma cruzi* pela *Triatoma sordida* Stal. Brasil Medico, 27 (30) : 309.

NEIVA, A.
1914. Contribuição para o estudo dos reduvidas hematofagos. II — Evolução do *Trypanosoma cruzi* no *Triatoma rubrofasciata*. (De Geer). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 6 (1) : 37-39.

NEIVA, A. & PINTO, C.
1923. Dos hemipteros hematophagos do norte do Brazil com descripção de duas novas especies. Brasil Medico, 37 : 73-76.

PAPROCKI, J.
1949. Parasitismo das válvulas cardíacas do cão pelo "Schizotrypanum cruzi". Rev. Brasil. Biol., 9 (1): 49-54.

PATTO, O.
1931. Fixação do complemento no bocio endemico. An. Fac. Med. Univ. Minas Gerais, 1 : 95-103.

PELLEGRINO, B.
1951. Atividade científica durante o primeiro triênio de funcionamento do Instituto de Biologia (1948-1950). Belo Horizonte, fev. 1951.

PELLEGRINO, J.
1946. O eletrocardiograma na fase crônica da doença de Chagas experimental no cão. Nota preliminar. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 44 (4) : 615-647.

PELLEGRINO, J.
1946a. A reação intradérmica com antígeno de "Schizotrypanum cruzi" na doença de Chagas experimental no cão. Rev. Brasil. Biol., 6 (4) : 443-450.

PELLEGRINO, J.
1947. O eletrocardiograma na doença de Chagas experimental no cão. Brasil Medico, 61 (33-34-35) : 299-301.

PELLEGRINO, J.
1947a. Ação do I. B. 946 (2,4 dinitrofenol) sôbre os triatomídeos transmissores da doença de Chagas. Nota preliminar. Arquivos de Biologia (S. Paulo), 31 (277) : 8-9.

PELLEGRINO, J.

1947b. Influência da injeção intravenenosa de antígeno de *Schizotrypanum cruzi* sôbre o eletrocardiograma de cães na fase crônica da doença de Chagas experimental. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 45 (3) : 521-535.

PELLEGRINO, J.

1948. Distribuição e índice de infecção dos triatomídeos transmissores da doença de Chagas no sudoeste de Minas Gerais. Rev. Brasil. Med., 5 (8) : 555-566.

PELLEGRINO, J

1949. Transmissão da doença de Chagas pela transfusão de sangue. Primeiras comprovações sorológicas em doadores e em candidatos a doadores de sangue. Rev. Brasil. Med., 6 (5) : 297-301.

PELLEGRINO, J.

1949a. Doença de Chagas em doadores de sangue. Bol. Ofic. Sanit. Panam., 28 (9) : 912-914.

PELLEGRINO, J.

1950. Novos dados sôbre a distribuição de triatomídeos e sua infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* no Estado de Minas Gerais (Brasil). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 48 : 639-667.

PELLEGRINO, J.

1950a. Nota sôbre o parasitismo de ovos de *Triatoma infestans* e *Panstrongylus megistus* pelo microhimenóptero *Telenomus fariai* Lima, 1927. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 48 : 669-673.

PELLEGRINO, J.

1950b. Parasitismo experimental de ovos de várias espécies de *Triatoma* pelo microhimenóptero *Telenomus fariai* Lima, 1927. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 48 : 675-686.

PELLEGRINO, J.

1950c. A doença de Chagas em Minas Gerais. Ciência e Cultura, 2 (1) : 46-47.

PELLEGRINO, J.

1951. Transmissores da doença de Chagas no Estado de Minas Gerais. Rev. Assoc. Med. Minas Gerais, 2 (1) : 43-66.

PELLEGRINO, J. & BORROTCHIN, M.

1948. Inquérito sôbre a doença de Chagas no Hospital da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 46 (2) : 419-457.

PELLEGRINO, J., BORROTCHIN, M., LEITE, G. & BRENER, Z.

1951. Inquérito sôbre a doença de Chagas em candidatos a doadores de sangue. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 49 : 555-564.

PELLEGRINO, J. & BRENER, Z.

1951. Profilaxia de um foco de doença de Chagas nas proximidades de Belo Horizonte (Cidade Industrial). Rev. Assoc. Medica Minas Gerais, em publicação.

PELLEGRINO, J. & BRENER, Z.

1951a. Sôbre uma mutação observada no *Psammolestes coreodes* Bergroth, 1911 (Hemiptera, Reduviidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 49 : 565-566.

PELLEGRINO, J. & BRENER, Z.

1951b. Dados não publicados.

PELLEGRINO, J. & MESQUITA, S. S.

1947. A reação de fixação do complemento na doença de Chagas. I — Nota sôbre falsas reações positivas e duvidosas feitas com antígeno de cultura de "Schizotrypanum cruzi" em sôros conservados em geladeira. Brasil Medico, 61 (47-48) : 396-401.

PERES, J. N.

1945. Ação do Dicloro-Difenil-Tricloroetana (DDT) sôbre triatomídeos transmissores da doença de Chagas. Revista Ceres (Viçosa), 6 (33) : 136-147.

PINHEIRO CHAGAS, C.

1920. Lesões hepaticas na molestia de Chagas. Tese. Fac. Med. Belo Horizonte. Tip. Leuzinger. Rio. pag. 53-96.

PINOTTI, M.

1950. Problema da malária. Ciência Médica, 19 : 205-234.

PINOTTI, M.

1950a. Campanha contra a molestia de Chagas. Folha Medica, 31 (17) : 129-132.

PINOTTI, M.

1951. Malária e doença de Chagas. Dois grandes problemas nacionais de saude em via de solução. Rev. Brasil. Biol., 8 (2) : 97-105.

PINTO, C. & LENT, H.

1946. Um novo hemíptero hematófago do gênero *Panstrongylus* Berg. 1879. Rev. Brasil. Biol., 6 (4) : 459-465.

PINTO, O. S.

1951. Comunicação pessoal.

REGULAMENTO DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DE MINAS GERAIS.

1928. Doença de Chagas. pp 92-93. Imprensa Oficial. B. Horizonte.

RODRIGUES, L.

1930. Das formas mentaes na doença de Chagas. Nota prévia. Imprensa Oficial de Minas Gerais. B. Horizonte. 120 pp.

ROMAÑA, C.

1935. Acerca de un sintoma inicial de valor para el diagnóstico de forma aguda de la enfermedad de Chagas, la conjunctivitis esquizotripanósica unilateral. Mis. Est. Pat. Reg. Argent. Publ. n.º 22.

ROMAÑA, C. & DIAS, E.

1942. Reação de fixação do complemento na Doença de Chagas, com antígeno alcoólico de cultura do "Schizotrypanum cruzi". Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37 (1) : 1-10.

SCHREIBER, G. & PELLEGRINO, J.

1949. Cytological researches on brazilian hemiptera. Eigth Intern. Cong. of Genetics. Stockholm. Proceedings, pag. 656-657.

SCHREIBER, G. & PELLEGRINO, J.

1949a. Pesquisas sôbre o crescimento do espermatócito. Rev. Brasil. Biol., 9 (4) : 519-520.

SCHREIBER, G. & PELLEGRINO, J.

1950. Eteropicnosi di autosomi come possibile mecanismo di speciazione. Ricerche citologiche su alcuni Emitteri neotropici. Scientia Genetica, 3 (3-4) : 215-226.

SCHREIBER, G. & PELLEGRINO, J.

1951. Análise citológica e cariométrica da ação da colchicina sôbre a espermatogênese de hemípteros. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 49 : 513-542.

TORRES, C. M.

1915. Alguns fatos que interessam á epidemiologia da molestia de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 7 (2) : 120-136.

TORRES, C. M.

1917. Estudo do myocardio na molestia de Chagas (forma aguda). I — Alterações parenchymatosas. Tese. Fac. Med. Rio de Janeiro. Tip. Leuzinger. 95 pp.

TORRES, C. M.

1917a. Estudo do miocardio na molestia de Chagas (forma aguda). Alterações da fibra muscular cardiaca. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 9 (1) : 114-135.

TORRES, C. M.

1923. A trypanosomose americana e a sua anatomia pathologica. Folha Med., 4 (4) : 25-29.

TORRES, C. M.

1928. Endocardite pariétale dans la maladie de Chagas. (Trypanosomiase américaine). Comp. Rend. Soc. Biol., 99 : 886-887.

TORRES, C. M.

1930. Patogenia de la miocarditis en la enfermedad de Chagas. V Reun. Soc. Argent. Pat. Reg. Norte : 902-915.

TORRES, C. M.

1931. Myocardite na trypanosomiase americana. IV Conf. Sul-Americana de Hyg., Microb. & Pathol. 1 : 7-23.

TORRES, C. M.

1941. Sôbre a anatomia patologica da doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 36 (3) : 391-404.

TORRES, C. M. & AZEVEDO, A. P.

1929. Cellules géantes kystiques chez l'armadille (*Dasypus novemcinctus* L.) qui présente l'infection spontanée par le Trypanosoma cruzi Chagas, 1909. Comp. Rend. Soc. Biol., 102 : 412-414.

TORRES, C. M. & DUARTE, E.
1948. Miocardite na forma aguda da doença de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 46 (4) : 759-793.

TORRES, C. M. & DUARTE, E.
1950. Lesões do feixe de His-Tawara na cardiopatia chagásica crônica. Prim. Reun. Panam. sobre Enf. de Chagas, Tucumán, 1 : 23-25.

VERSIANI, O.
1944. Diagnóstico diferencial da Doença de Chagas. Lição clínica. Notas. Res. Clin. Cient. (S. Paulo), 13 (7) : 280-286.

VERSIANI, O. & CAVALCANTI, A. C.
1943. As reações de Henry e Henry-Wolff na malária, esquitossomose, doença de Chagas e algumas outras entidades clinicas. Rev. Bras. Biol., 3 (4) : 383-390.

VERSIANI, O. & JUNQUEIRA, M.
1943. Adenopatias chagasicas. Contribuição ao seu estudo. Brasil Medico, 57 (12-13) : 147-152.

VIANNA, G.
1911. Contribuição para o estudo da anatomia patolojica da "Molestia de Carlos Chagas" (Esquizotripanose humana ou tireoidite parazitaria). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, (2) : 276-294.

VIANNA, J. B.
1931. Bocio endemico em Minas Gerais. An Fac. Med. Univ. Minas Gerais, 1 : 53-79.

VILLAÇA, H.
1913. Syndrome ovariano na molestia de Carlos Chagas. An. 7.º Congr. Bras. Med. Cir. 5 : 51-60.

VILLELA, E.
1923. Molestia de Chagas — Descripção clinica. 1.ª Parte. Folha Medica, 4 (5) : 33-35.

VILLELA, E.
1923a. Molestia de Chagas — Descripção clinica. 2.ª Parte. Folha Medica, 4 (6) : 41-43.

VILLELA, E.
1923b. Molestia de Chagas — Descripção clinica. 3.ª Parte. Forma nervosa. Folha Medica, 4 (7) : 49-52.

VILLELA, E.
1923c. Molestia de Chagas — Descripção clinica. 4.ª Parte. Folha Medica, 4 (8) : 67.

VILLELA, E.
1923d. Molestia de Chagas — Descripção clinica. 5.ª Parte. Folha Medica, 4 (9) : 65-66.

VILLELA, E.
1924. Molestia de Chagas. An. Seg. Congr. Bras. Hig., 1 : 103-115.

VILLELA, E.
1930. A occurrencia da molestia de Chagas nos hospitais de Bello Horizonte e na população de seus arredores. Ann. Fac. Med. Univ. Minas Gerais, 1 : 1-18.

VILLELA, E.

1930a. Da occurrencia de casos de molestia de Chagas nos hospitais de Bello Horizonte e na população de seus arredores. Bol. Acad. Nac. Med., 102 (12) : 122-156.

VILLELA, E.

1930b. Da occurrencia de doença de Chagas nos hospitais de Bello Horizonte e na população de seus arredores. Folha Medica, 11 (20) : 229-235.

VILLELA, E.

1951. Moléstia de Chagas. Algumas aquisições recentes, em especial relativas à profilaxia. Rev. Bras. Malar. & d. Trop. 3 (1) : 101-121.

VILLELA, E. & BICALHO, C.

1923. As pesquisas de laboratorio no diagnostico da molestia de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 16 (1) : 14-29.

VILLELA, E. & DIAS, E.

1936. Estudo das ulcerações produzidas pelo *Schizotrypanum cruzi* em animais experimentalmente infectados. Nov. Reun. Soc. Arg. Pat. Reg., 1 : 184-201.

VILLELA, E., PENIDO, J. C. N., LOBO, A. & CHAGAS, E.

1929. Aspecto comum da trypanosomiase americana. Rev. das Clin., 3 (4) : 2-8.

Estudos sôbre o complemento

II. — Análise eletroforética do complemento inativado pelas radiações ultravioleta

por

F. Rocha Lagôa e **H. T. Cardoso**

Foi demonstrado em trabalho anterior, que o complemento inativado pelas radiações ultravioleta sofre modificação em seu segundo componente (C2) de sua fração termo-labil. Essas verificações foram feitas em complementos existentes em sôros recentes de animais pertencentes a diversas espécies (homem, cão, cobaio, coelho, cavalo e boi). Os complementos inativados pela ação dessas radiações, readquirem tôdas as suas propriedades, se lhes fôr adicionada fração albumina (segundo componente, cadeia terminal da sua fração termo-labil, C2), obtida de complemento não irradiado. Dentre os complementos estudados, foi a fração albumina (C2) do de cobaio que revelou capacidade de regenerar maior número de complementos inativados pelas radiações ultravioleta, como o do homem, cão, coelho e o do próprio cobaio.

Considerando a importância nos domínios da imunologia de esclarecimentos sôbre o que se denomina por complemento, resolvemos encetar a análise eletroforética do mesmo, através da apreciação da sua fração sensível às radiações ultravioleta.

MATERIAL E MÉTODOS

O complemento utilizado foi o de cobaio, sempre obtido de sôro recente, diluído a 1/10 em água fisiológica esteril. A obtenção do segundo componente dêste complemento (fração albumina termo-labil, C2), foi realizada pelo método de LIEFMANN (corrente de CO_2 em solução gelada em água distilada contendo sôro recente, diluído a 1/10; após precipitação da fração globulina (CI) e retirada da mesma centrifugação, foi eliminado o CO_2 existente no sobrenadante que contém a fração albumina (C2) e refeita a sua isotonia).

As verificações para determinar a integridade do complemento foram feitas pela aferição de sua capacidade hemolítica, isto é, pela propriedade de causar hemólise em um sistema hemolítico constituído de glóbulos de carneiro lavados e diluídos a 2,5% em água fisiológica, prèviamente sensibilizados por imune-sôro específico, diluído de forma

a ser obtida a concentração de 10 unidades hemolíticas por cada 1 ml de suspensão de glóbulos. A leitura dos resultados foi sempre feita após incubação em banho-maria a 37º durante 1 hora.

O aparelho de eletroforese empregado foi do tipo Tiselius, portátil, mod. 38, fabricado por PERKIN e ELMER, nos E. U. A.

Os sôros contendo complemento e as frações complementares foram estudados imediatamente após serem obtidos e sempre acompanhados de testemunhas. Foram êles diluídos em tampão de glicina, pH 8,3, fôrça iônica 0,2, na proporção de uma parte do material para 2 partes do tampão ou seja com uma diluição final de 1:3. Em seguida, a solução diluída foi dializada estàticamente contra um volume quarenta vêzes maior do tampão, durante quarenta horas no mínimo, através de membrana de papel celofane. Findo êste prazo, foi determinada a condutibilidade específica da solução a 0º C, que sòmente então, foi levada à cuba eletroforética. Empregamos as seguintes designações para identificar o material analisado:

SL — A — Sôro normal de cobaio, contendo o complemento ativo.

SL — B — O mesmo sôro anterior após ser inativado pelas radiações ultravioletas.

SL — C — Fração albumina (C2), do complemento, obtida, pelo método de LIEFMANN.

SL — D — Fração albumina (C2), idêntica à anterior, após ser inativada pelas radiações ultravioletas.

A fonte produtora de radiações ultravioletas utilizada, foi uma lâmpada "Hanovia", emitindo radiações na faixa de 2.482 Å a 3.130 Å, com o máximo de intensidade em 2.537. Å. Foi ela mantida a 10 centímetros de distância do material contido em pequena placa de Petri, com refrigeração assegurada de forma a manter a temperatura constante em + 10ºC, oferecendo 3 centímetros de superfície, por 1 milímetro de espessura, sendo agitado de quando em vez durante todo o período da irradiação que foi de 20 minutos.

RESULTADOS

A apreciação dos diagramas eletroforéticos dos materiais examinados, nos revelam a existência nos que foram submetidos às radiações ultravioleta, de nítidas alterações na zona correspondente aos componentes albumina e alfa-globulinas.

As alterações encontradas indicam-nos a presença de uma diminuição sensível na concentração da fração albumina e um acréscimo correspondente de material com propriedades eletroforéticas similares às das alfa-globulinas.

Considerando que tais resultados pudessem ser decorrentes de imperfeição do método empregado para separação das frações albumina e globulina, resolvemos repetir as mesmas experiências utilizando agora fração albumina pura comercial (fração V, Armour) cuja pureza já foi comprovada em nossos trabalhos de rotina em eletroforese. Submetida esta albumina ao tratamento pelas radiações ultravioleta, em condições idênticas às anteriormente usadas, verificamos pela análise eletroforética da mesma, *um decréscimo na quantidade de albumina e um acréscimo de concentração dos componentes proteicos da zona eletroforética das alfa-globulinas*, o que confirmou totalmente os resultados anteriormente obtidos.

Seguem-se os Quadros.

QUADRO I

Dados sôbre a eletroforese

AMOSTRAS	Material	Resist. a 0°C.	Tempo seg.	MOBILIDADES × 10^5 cm/seg/volt/cm.	
				ALB.	α
SL-A	Sôro cobaia	55,2	9 000	5,9	..
SL-B	SL-A irrad.	55,2	10 860	6,0	5,2
SL-C	Fração ALB.	56,5	6 180	5,8	4,6
SL-D	SL-C irrad:	57,0	7 440	5,6	4,5
ALB-A	Albumina, fr. V, Armour	55,2	3 600	6,0	..
ALB-B	Mesma irrad.	55,2	6.840	5,7	4,7

QUADRO II

Valores constantes

Temperatura da electroforese 0-2°C.

Solução tampão: Glicina — NaOH/NaCl,
pH = 8,3 ; μ = 0,2

Coeficiente da célula condut. = 0,5577

Fator de aumento da lente = 0,976

Fator de correção da mobilidade = + 1,2 × 10^5

QUADRO III

Áreas dos diagramas nas zonas ALB e 2

AMOSTRAS	Areas, mm² (*)		EFEITO IRRADIAÇÃO (**)	
	ALB	α	ALB	α
SL-A	12 125	1 000	92%	8%
SL-B	10 665	7 550	58%	32%
SL-C	5 675	4 290	63%	37%
SL-D	4 920	4 945	49%	51%
ALB-A	8 725	...	100%	..
ALB-B	8 660	9 425	48%	52%

* Leituras feitas com ampliação de 10 x sôbre o original, negativo.

** Unidades percentuais arbitrárias, supondo presença apenas ALB e α e a relação direta da concentração com as áreas dos diagramas.

CONCLUSÕES

1 — Foi confirmada pela análise eletroforética do complemento de cobaio, inativado pelas radiações ultravioleta, que a fração sensível a essas radiações é a correspondente ao segundo componente (fração albumina, C2).

2 — A análise eletroforética das frações complementares submetidas às radiações ultravioleta apresentam um decréscimo na quantidade de albumina existente e um acréscimo correspondente da zona eletroforética das alfa-globulinas.

SUMÁRIO

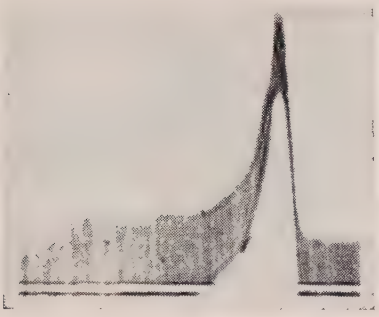
Foi realizada a análise eletroforética de sôros de cobaio, contendo complemento inativado pelas radiações ultravioleta, sendo verificada a existência de modificação na quantidade de albumina e um acréscimo correspondente da zona eletroforética das alfa-globulinas o que confirma a observação anterior de que a fração do complemento sensível às radiações ultravioleta, é o seu segundo componente (C2).

SUMARY

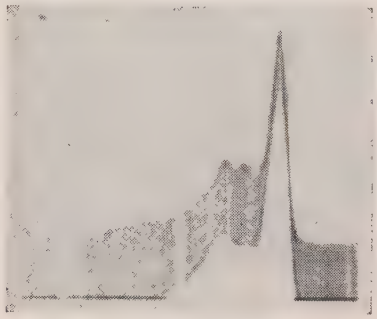
The electrophoretic analysis of sera from guinea pigs was made with complement inactivated by ultraviolet radiations.

It was found that the quantity of albumin changed, and an increase of the corresponding electrophoretic area of the globulins-alpha also took place, therefore, confirming the observations made previously that the fraction of the complement destroyed by ultraviolet radiations is its second component (albumin fraction, C2).

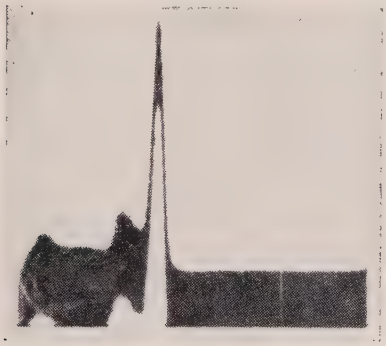
DIAGRAMAS OBTIDOS NO APARELHO DE TISELIUS COM AMOSTRAS DE COMPLEMENTO DE COBAIO E TESTEMUNHAS



SL-A: Sôro normal, complemento aditivo. Ramo ascendente

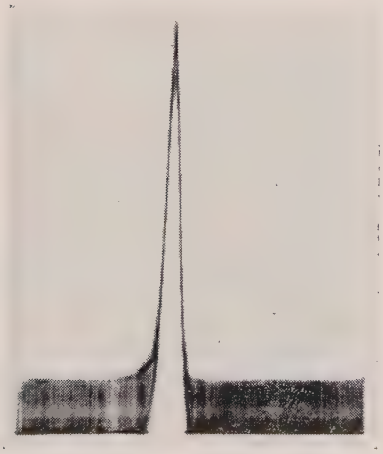


SL-B: Sôro normal, irradiado. Ramo ascendente

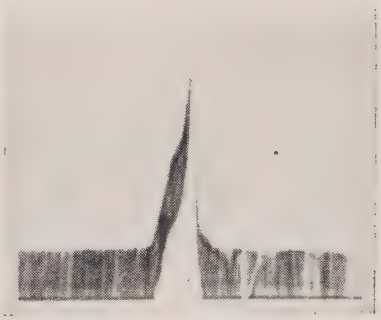


SL-C: Fração albumina (C_o), seg. Liefmann. Ramo ascendente

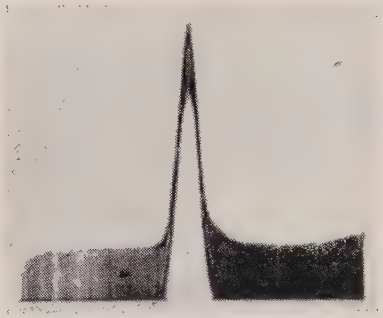
SL-D: Fração albumina (C_o), seg. Liefmann, irradiada. Ramo ascendente.



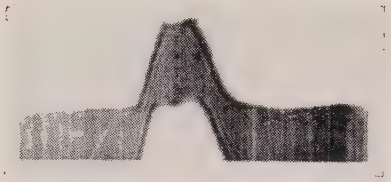
ALB-A: Albumina Armour. Ramo ascendente.



ALB-B: Albumina Armour irradiada. Ramo ascendente.



ALB-A: Albumina Armour. Ramo descendente.



ALB-B: Albumina Armour irradiada. Ramo descendente.

Heterakis isolonche **Linstow, 1906** e Heterakis gallinae **(Gmelin, 1790), agentes causais da Tiflite verrucosa em faisões no Jardim Zoológico do Distrito Federal**

por

J. Machado de Mendonça

(Com 9 estampas)

A 12 de Julho de 1948 chegaram, provenientes de São Paulo, dois grandes lotes de faisões para o Jardim Zoológico do Distrito Federal. Constituiam os mesmos duas espécies distintas: *Chrysolophus pictus* (L.) e *Phasianus colchicus torquatus* Gm., que foram reunidas em um grande viveiro, aguardando melhores acomodações. As aves, após a chegada, mantiveram-se com vivacidade normal e característica; raras, porém, se apresentaram pouco ágeis e tristonhas, o que foi considerado como fadiga natural, devida à longa viagem.

A 19 do mesmo mês morreu um dos *Phasianus colchicus;* sua necrópsia revelou o seguinte: bom estado de nutrição, intestino com abundantes fézes líquidas; dos órgãos internos sòmente os cecos se achavam macroscòpicamente afetados, apresentando-se hipertrofiados, com coloração violácea de aspecto necrótico, com inúmeras inclusões nodulares de côr esbranquiçada, que lhes davam uma sensível dureza e deformação; em sua luz, havia fézes abundantes e inúmeros nematódeos.

A 9 de Agôsto do mesmo ano morreu o primeiro *Chrysolophus pictus;* sua necrópsia revelou quadro idêntico ao da ave anterior.

Mais tarde os lotes foram separados, cabendo aos *Chrysolophus pictus* um grande parque, muito arborizado, com várias áreas sombrias e úmidas, que, primitivamente, havia sido habitado por *Tinamus solitarius* (Vieill.), *Odontophorus capueira capueira* (Spix), *Rhynchotus rufescens rufescens* (Temm.), *Crypturellus undulatus undulatus* (Temm.), *Crypturellus parvirostris* (Wag.), *Penelope pileata* (Wag.), *Penelope superciliaris superciliaris* (Temm.), *Penelope jacucaca* (Spix), *Crax fasciolata* (Spix) e *Mitu mitu* (L.); os *Phasianus colchicus* permaneceram no viveiro inicial.

Com o tempo, o número de aves tristes foi aumentando e alguns dos exemplares começaram a apresentar forte diarréia, freqüentemente

sanguinolenta, penas eriçadas, permanecendo encorujados e sem ânimo para comer. De quando em vez apresentavam convulsões, morrendo depois. Ataques semelhantes observaram-se, também, em aves aparentemente sadias, que, ao terminarem a crise convulsiva, voltavam ao primitivo estado de vivacidade; isto ocorreu, com maior freqüência, nos exemplares machos. As fézes das aves com diarréia foram examinadas: além de ovos de helmintos foram encontrados inúmeros oocistos de *Eimeria* e *Isospora;* dêstes, eram mais freqüentes os primeiros. Isto levou-nos a pensar em uma esporozoose de caráter epizoótico.

Durante o mês de Outubro do mesmo ano, morreram 7 exemplares (4 *Chysolophus pictus* e 3 *Phasiamus colchicus*), aumentando a mortalidade no decorrer do mês de Novembro. As aves mortas foram tôdas necropsiadas e apresentaram sempre aspecto mais ou menos idêntico. As fézes contidas nos cecos foram examinadas com o fim de pesquisar oocistos de esporozoários, os quais, no entanto, não foram encontrados em vários exames. Os cecos, enviados à Secção de Anatomia Patológica do Instituto Oswaldo Cruz, com o fim de evidenciar a causa dos nódulos, revelaram inúmeros nematódeos na parede do órgão, levando-nos, dessa forma, a abandonar a hipótese de esporozoose cecal.

Estudando os nematódeos coletados durante a necrópsia, verificamos tratar-se de duas espécies do gênero *Heterakis*: *Heterakis isolonche* Linstow, 1906 e *Heterakis gallinae* (Gmelin, 1790). Dissociando alguns dos nódulos pudemos constatar perfeitamente a presença de exemplares quase adultos das duas espécies.

Como, até agora, não foram elas assinaladas como responsáveis pela tiflite verrucosa dos faisões no Brasil, estudâmo-las, detalhadamente, no presente trabalho.

Heterakis isolonche Linstow, 1906

(Ests. 1-6)

Comprimento — Machos 9,61 a 12,49 mm.; fêmeas 13,50 a 15,41 mm.
Largura — Machos 0,50 a 0,54 mm.; fêmeas 0,57 a 0,60 mm.

Corpo fusiforme, com coloração rósea em vida e branca após fixação. Cutícula estriada transversalmente. Extremidades atenuadas. Boca circundada por três lábios globosos que medem 0,037 a 0,042 mm. de comprimento nos machos e 0,033 a 0,100 mm. nas fêmeas; são separados do resto do corpo por um estrangulamento basal. Cada lábio possui, em sua região anterior, um pequeno espinho. Papilas labiais presentes, duas para cada lábio. Entre os lábios o corpo forma pequenas saliências que simulam interlábios; são elas variáveis no tamanho. Asas laterais presentes; iniciadas na base dos lábios terminam a 3,38 mm. da extremidade posterior nos machos e a 4,36 mm. nas fêmeas. Sua largura máxima, encontrada a 0,083 mm. de sua origem nos machos é de 0,065 mm.; nas fêmeas ela é observada a 0,166 mm. de sua origem e mede 0,066 mm. Papilas cervicais e poro excretor não evidenciados. Anel nervoso situado a 0,47 mm. da extremidade cefáli-

ca nos machos e a 0,46 a 0,50 mm. nas fêmeas. Esôfago com bulbo posterior; mede de comprimento total 1,38 a 1,63 mm. nos machos e 1,61 a 1,81 mm. nas fêmeas. Faringe com 0,066 a 0,104 mm. de comprimento nos machos e 0,083 a 0,109 mm. nas fêmeas. Bulbo esofagiano grande e piriforme, com 0,43 a 0,47 mm. de comprimento por 0,30 a 0,35 mm. de largura nos machos e 0,40 a 0,50 mm. por 0,26 a 0,30 mm. nas fêmeas. Intestino retilíneo, dilatado em sua porção inicial; é separado do bulbo esofagiano por três válvulas distintas.

Fêmeas didelfas, anfidelfas por cruzamento, ovíparas, com vulva pouco saliente situada no meio do corpo, a 7,07 a 7,13 mm. da ponta da cauda. Região vulvar com 1 a 4 saliências cuticulares. Ovejetor simples, de paredes musculosas, medindo 4,89 a 5,73 mm. de comprimento por 0,12 mm. de largura; liga-se, por intermédio de um vestíbulo, que mede 1,10 mm. de comprimento, a dois úteros pouco sinuoso e repletos de ovos. O útero anterior curva-se em U a uma distância de 1,84 a 2,35 mm. do nível do bulbo e o posteiror curva-se também em U a uma distância de 1,57 a 2,35 mm. do anus; ligam-se ambos a ovidutos muito delgados e enovelados, que por sua vez comunicam-se com os ovários. O útero anterior comunica-se com o ovário que se situa na porção posterior do corpo, e o útero posterior com o ovário que se situa na porção anterior do corpo, de modo que os dois ovidutos ficam mais ou menos ao mesmo nível, situados na parte média do corpo, próximo à região vulvar. O ovário situado na região anterior do corpo, a uma distância de 0,45 a 0, 97 mm. do fim do esôfago dobra-se em U, terminando em ponta fina. O ovário situado na região posterior do corpo não muda de direção, terminando a 2,35 a 2,87 mm. do nível da abertura anal. Ovos de casca lisa e grossa, não embrionados na ocasião da postura; medem 0,071 a 0,083 mm. de comprimento por 0,042 a 0,049 mm. de largura. Extremidade posterior longa e fina com 2 papilas situadas a 0,83 a 0,91 mm. do ápice caudal. Anus situado a 1,14 a 1,61 mm. da ponta da cauda.

Machos com espículos iguais ou subguais em comprimento e levemente diferentes na forma. O espículo direito mede 1,54 a 1,94 mm. de comprimento, tem a base um pouco larga e a extremidade distal afilada e ligeiramente curvada; possui ainda duas asas membranosas laterais que medem 0,033 mm. de largura máxima e que percorrem todo o corpo espicular; uma das asas apresenta um estrangulamento próximo à ponta do espículo. O espículo esquerdo mede 1,53 a 1,83 mm. de comprimento, tem a base alargada e a extremidade distal afilada e retilínea; possue, também, duas asas laterais membranosas; uma nítida, com 0,021 mm. de largura máxima, percorre todo o corpo espicular; a outra, rudimentar e de observação difícil é mais fàcilmente evidenciada próximo às extremidades do espículo. Aparêlho genital dirigido para diante. Canal ejaculador pouco diferenciado. Vesícula seminal apresentando na extremidade proximal dois divertículos grandes, em fundo de saco, dirigidos para a parte anterior do corpo e medindo 1,06 mm. e 1,01 mm. de comprimento. Testículo, com numerosas alças sinuosas, dobrado em U a cêrca de 0,33 mm. do nível do fim

do esôfago, terminando a 1,84 a 2,04 mm. dêste mesmo nível. Anus situado a 0,58 a 0,64 mm. da ponta da cauda. Ventosa genital presente, com 0,18 a 0,27 mm. de diâmetro, distando do anus 0,10 a 0,12 mm. Cauda com duas asas sublaterais bem desenvolvidas, com 0,74 a 0,80 mm. de comprimento por 0,08 a 0,10 mm. de largura máxima; são sustentadas por 12 pares de papilas pedunculadas, sujeitas a variações, assim distribuídos: 2 pares pre-, 6 pares ad- e 4 pares post-anais.

Habitat — Ceco de *Chrysolophus pictus* (L.) e *Phasianus colchicus torquatus* Gm.

Proveniência — Jardim Zoológico, Rio de Janeiro, D. F., Brasil.

O material que estudamos está incluído na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz sob os números 19.497, 19.498, 19.501 e 19.502.

Heterakis gallinae (Gmelin, 1790)

(Ests. 1, 7-9)

Comprimento — Machos 6,87 a 8,74 mm.; fêmeas 9,45 a 11,05 mm.
Largura — Machos 0,27 a 0,34 mm.; fêmeas 0,38 a 0,42 mm.

Corpo fusiforme, branco antes e após a fixação. Cutícula estriada transversalmente. Extremidades atenuadas. Boca circundada por 3 lábios globosos que medem 0,017 a 0,035 mm. de comprimento nos machos e 0,027 a 0,035 mm. nas fêmeas; são separados do resto do corpo por um estrangulamento basal. Cada lábio possui, em sua região anterior, um pequeno espinho. Papilas labiais presentes, duas para cada lábio. Entre os lábios o corpo forma pequenas saliências que simulam interlábios; são elas variáveis no tamanho. Asas laterais presentes; iniciadas na base da cabeça prolongam-se por todo o corpo e medem 0,050 mm. de largura máxima, tanto nos machos como nas fêmeas. Papilas cervicais e poro excretor não evidenciados. Anel nervoso situado a 0,35 mm. da extremidade cefálica nos machos e a 0,32 mm. nas fêmeas. Esôfago com bulbo posterior; mede de comprimento total 0,97 a 1,13 mm. nos machos e 1,11 a 1,17 mm. nas fêmeas. Bulbo esofagiano grande e piriforme, com 0,30 a 0,32 mm. de comprimento por 0,18 a 0,24 mm de largura nos machos e 0,28 a 0,33 mm. por 0,20 a 0,23 mm. nas fêmeas. Intestino retilíneo, dilatado em sua porção inicial e separado do bulbo esofagiano por três válvulas distintas.

Fêmeas didelfas, anfidelfas por cruzamento, ovíparas, com vulva pouco saliente, situada no meio do corpo a 4,22 mm. da ponta da cauda. Ovejetor simples, de paredes musculosas, medindo 4,51 mm. de comprimento por 0,10 mm. de largura, apresentando na altura da vulva duas curvaturas; liga-se, por intermédio de um vestíbulo que mede 0,63 mm. de comprimento, a dois úteros pouco sinuosos e repletos de ovos. O útero anterior curva-se em U a uma distância de 1,16 a 1,67 mm. do bulbo e o posterior curva-se também em U a uma distância de 1,00 a 1,07 mm. do anus; ligam-se ambos a ovidutos muito delgados e eno-

velados, que por sua vez comunicam-se com os ovários. O útero anterior comunica-se com o ovário que se situa na região posterior do corpo e o útero posterior comunica-se com o ovário que se situa na região anterior do corpo, de modo que os dois ovidutos ficam mais ou menos ao mesmo nível situados na parte média do corpo, próximo à região vulvar. O ovário situado na porção anterior do corpo, a uma distância de 0,48 mm. do fim do esôfago, dobra-se em U terminando em ponta fina. O ovário situado na porção posterior do corpo não muda de direção terminando em ponta fina a 0,35 a 0,61 mm. do nível da abertura anal. Ovos embrionados na ocasião da postura; medem 0,061 a 0,078 mm. de comprimento por 0,041 a 0,043 mm de largura. Extremidade posterior longa e fina com 2 papilas situadas a 0,58 mm do ápice caudal. Anus situado a 1,21 mm. da ponta da cauda.

Machos com espículos desiguais e dissemelhantes. O espículo maior mede 1,51 a 2,18 mm. de comprimento, tem a base grossa e a extremidade distal afilada, possuindo ainda uma asa membranosa lateral, que mede 0,013 mm. de largura média e que se dobra sôbre si em sua maior extensão, ficando distendida sòmente nas extremidades. O espículo menor mede 0,54 a 0,80 mm. de comprimento e possui duas largas asas laterais membranosas, sendo uma levemente mais larga que a outra; ambas terminam antes da ponta do espículo e medem 0,021 mm. e 0,013 mm. de largura máxima. Relação espicular é de 1:3,1. Aparelho genital dirigido para diante. Canal ejaculador pouco diferenciado. Vesícula seminal apresentando na extremidade proximal dois divertículos grandes e desiguais, em fundo de saco, dirigidos para a parte anterior do corpo e medindo o maior 0,85 a 0,95 mm. e o menor 0,80 a 0,86 mm. de comprimento. Testículo com numerosas alças sinuosas, dobrado em U a cêrca de 0,62 mm. do nível do fim do esôfago e terminando a 2,65 mm. dêste mesmo nível. Anus situado a 0,40 a 0,45 mm. da ponta da cauda. Ventosa genital presente, com 0,083 mm. de diâmetro, distando do anus 0,10 a 0,13 mm. Cauda com 2 asas sublaterais bem desenvolvidas, com 0,50 mm. de comprimento por 0,17 mm. de largura máxima; são sustentadas por 12 pares de papilas pedunculadas, assim distribuídos: 2 pares pre-, 6 ad- e 4 post-anais.

Habitat — Cecos de *Chrysolophus pictus* (L.) e *Phasiamus colchicus torquatus* Gm.

Proveniência — Jardim Zoológico, Rio de Janeiro, D. F., Brasil.

O material estudado está depositado na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz sob os números 19.496, 19.499, 19.500 e 19.503. Nesta coleção estão incluídos sob o número 19.504, os cecos de um *Chrysolophus pictus* (L.) parasitado pelas espécies: *H. isolonche* e *H. gallinae*.

Comentários sôbre *Heterakis isolonche* Linstow, 1906

Lucet & Henry, em 1911, estudando 6 casos de tiflite verrucosa em faisões (5 casos em *Crossoptilon mantchuricum* Swinh. e 1 em *Phasianus*

colchicus) provocada pelo *Heterakis isolonche* Linstow, 1906, parasito descrito, originàriamente, de *Thaumalea amherstiae* Wagl., dizem ter sido Klee, em 1891, quem primeiro fizera menção, na Alemanha, aos nó-

QUADRO I

Heterakis isolonche Linstow, 1906

Medidas dos espículos, em milímetros, e relação espicular

N.º	Direito	Esquerdo	Relação
1	1,91	1,68	1:1,73
2	1,69	1,64	1:1,03
3	1,66	1,64	1:1,01
4	1,54	1,53	1:1,006
5	1,79	1,73	1:1,03
6	1,79	1,69	1:1,05
7	1,74	1,68	1:1,03
8	1,76	1,69	1:1,04
9	1,68	1,63	1:1,03
10	1,71	1,74	1:1,04
11	1,66	1,64	1:1,01
12	1,83	1,76	1:1,04
13	1,59	1,58	1:1,006
14	1,73	1,68	1:1,02
15	1,71	1,68	1:1,01
16	1,83	1,81	1:1,01
17	1,61	1,61	1:1
18	1,79	1,74	1:1,02
19	1,71	1,66	1:1,03
20	1,73	1,66	1:1,04
21	1,66	1,66	1:1
22	1,69	1,66	1:1,01
23	1,79	1,68	1:1,06
24	1,79	1,79	1:1
25	1,73	1,63	1:1,06
26	1,76	1,74	1:1,01
27	1,86	1,78	1:1,04
28	1,86	1,71	1:1,08
29	1,73	1,69	1:1,02
30	1,69	1,58	1:1,06
31	1,74	1,59	1:1,09
32	1,69	1,66	1:1,01
33	1,69	1,66	1:1,01
34	1,71	1,68	1:1,01
35	1,76	1,69	1:1,04
36	1,69	1,66	1:1,01
37	1,71	1,68	1:1,01
38	1,89	1,83	1:1,03
39	1,84	1,79	1:1,02
40	1,84	1,78	1:1,03
41	1,77	1,71	1:1,03
42	1,67	1,64	1:1,01
43	1,94	1,57	1:1,23
44	1,74	1,67	1:1,04
45	1,76	1,69	1:1,04

dulos parasitários observados em *P. colchicus,* e, ainda, que Railliet & Lucet, em 1892, foram os primeiros a assinalar esta afecção na França, em um faisão dourado (*Thaumalea picta* Wagl.), pensando tratar-se da espécie *Heterakis papillosa* (Bloch, 1782) e empregando, então a expressão "tiflite verrucosa".

Nesta mesma publicação Lucet & Henry referem, ainda, os trabalhos de Galli-Valerio (1896), em faisão comum; Klee (1897), em *T. amherstiae;* Letulle & Marotel (1901), no faisão comum, e Sambon (1908), em *Crossoptilon mantchuricum* e *Phasianus chrysomelas* Severtz. Lucet & Henry examinaram os espécimes encontrados por Railliet & Lucet, por Letulle & Marotel e por Sambon, verificando pertencerem todos êles à espécie *H. isolonche* Linstow, 1906.

Ainda em 1911 Gedoelst refere *H. isolonche* como agente causal da tiflite verrucosa dos fasianídeos.

Wassink, em 1917, descreve uma nova espécie parasita de faisões, que denomina *Heterakis neoplastica.*

Baylis & Daubey, em 1922, encontram o *H. isolonche* parasitando *Tragopan satyra* (L.) *Lophophorus impeyanus* (Lath.) e *Ithagenes cruentus* (Hardw.) no Jardim Zoológico de Calcutá; tecem, então, comentários sôbre as saliências cuticulares da região vulvar.

Ortlepp, em 1923, descreve uma nova espécie, *Heterakis interlabiata,* parasita de *Rhizothera longirostris* (Temm.), em Málaca.

Schwartz, em 1924, estuda a tiflite verrucosa dos faisões nos Estados Unidos da América e no Canadá, causada, também, pelo *H. isolonche.*

Baylis, em 1925, revendo o material original de *H. neoplastica* considera-o idêntico ao *H. isolonche.*

Chandler, em 1926, estudando amostras colhidas no Jardim Zoológico de Calcutá, descreve 4 espécies novas: *Heterakis lanei* e *H. hastata,* parasitas de *Lophura rufa* (Raffl.), *H. variabilis,* parasita de *Polyplectron bicalcaratum* (L.), e *H. vulvolabiata,* parasita de *Arboricula torquata.*

Cram, em 1927, concorda com Baylis, mantendo *H. neoplastica* na sinonímia de *H. isolonche.*

Maplestone, em 1931, encontra, no Jardim Zoológico de Calcutá, o *H. variabilis* Chandler, 1926, em seu hospedador tipo.

Em 1932, êste mesmo pesquisador, baseado em abundante material proveniente de aves mortas no Jardim Zoológico de Calcutá, chega à conclusão de serem *H. lanei* Chandler, 1926 e *H. hastata* Chandler, 1926 idênticos ao *H. isolonche.* Estuda, ainda, outros espécimes, colhidos em *Tragopan satyra, Euplocamus nycthemerus, Phasianus leucomelanus* e *Lophophorus impeyanus,* considerando-os, todos, pertencentes à espécie *H. isolonche.* Apresenta um quadro comparativo com as medidas de *H. isolonche* (referidas por Cram, em 1927), de *H. lanei* e *H. hastata* (referidas por Chandler, em 1926) e aquelas dos espécimes obtidos por êle em *E. nycthemerus, P. leucomelanus* e *T. satyra.*

QUADRO II

Heterakis isolonche Linstow, 1906

(Medidas em milímetros)

AUTOR	Linstow, 1906		Lucet & Henry, 1911		Maplestone, 1932		Maplestone, 1932		Li, 1933		Ortlepp, 1923		Chandler, 1926		Mendonça	
Nome	*H. isolonche*		*H. isolonche*		*H. isolonche*		*H. isolonche*		*H. isolonche*		*H. interlabiata*		*H. hastata*		*H. isolonche*	
Sexo	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
Comprimento	7,8	9,3	7,5 — 9,0	9,0 — 12,0	8,16 — 9,2	—	9,4 — 9,6	—	11,50 — 12,25	13,15 — 14,45	7,0	8,0 — 9,5	10,5 — 11,5	12 — 13	12,61 — 12,49	13,5 — 15,41
Largura	0,48	0,47	0,38 — 0,40	0,42 — 0,47	—	—	—	—	0,32 — 0,38	0,33 — 0,35	0,3	0,36 — 0,40	0,37	0,42 — 0,46	0,50 — 0,54	0,57 — 0,60
Lábios	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,037 — 0,042	0,033 — 0,100
Faringe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,12 — 0,13	0,066 — 0,104	0,083 — 0,109
Esôfago	—	—	1,20 — 1,35	—	—	—	—	—	1,45 — 1,60	1,65 — 1,70	—	—	1,5	1,6	1,38 — 1,63	1,61 — 1,81
Bulbo	—	—	0,26 — 0,30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,38 × 0,24	0,42 × 0,27	0,43 — 0,47 × 0,30 — 0,35	0,40 — 0,50 × 0,26 — 0,30
Anel nervoso	—	—	—	—	—	—	—	—	0,34 — 0,38	0,40 — 0,45	—	—	—	—	0,47	0,46 — 0,50
Poro excretor	—	—	—	—	—	—	—	—	0,50 — 0,52	0,57 — 0,60	—	—	—	—	—	—
Ovos	—	0,073 × 0,044	—	0,070 — 0,075 × 0,042 — 0,046	—	—	—	—	—	0,059—0,064 × 0,038 - 0,041	—	0,066 × 0,037	—	0,070 × 0,040	—	0,071 — 0,083 × 0,042 — 0,049
Anus	—	—	—	—	—	—	—	—	0,60 — 0,75	1,40 — 1,50	—	—	0,55	1,2 — 1,3	0,58 — 0,64	1,14 — 1,61
Espículo direito	1,41	—	1,40 — 1,75	—	1,29 — 1,78	—	1,77 — 1,99	—	1,56 — 1,70	—	1,25	—	1,65 — 1,75	—	1,54 — 1,94	—
Espículo esquerdo	1,41	—	1,40 — 1,75	—	1,29 — 1,68	—	1,76 — 1,90	—	1,45 — 1,61	—	1,25	—	1,65 — 1,75	—	1,53 — 1,83	—
Diâmetro da ventosa	—	—	—	—	0,9 — 0,11	—	0,106 — 0,108	—	0,14 — 0,15	—	—	—	0,145	—	0,18 — 0,27	—
Ventosa ao anus	—	—	—	—	0,08 — 0,12	—	—	—	—	—	—	—	0,15	—	0,10 — 0,12	—
Pares de papilas	12	—	11	—	—	—	—	—	—	—	12	—	—	—	12	—
Pares pap. pre-anais	2	—	2	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	2	—
Pares pap. ad-anais	6	—	5	—	—	—	—	—	—	—	6	—	—	—	6	—
Pares pap. post-anais	4	—	4	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	4	—
Hospedador	*Thaumalea amherstiae*		Faisões		*Euplocamus nycthemerus*		*Phasianus leucomelanus*		*Chrysolophus pictus* (L).		*Rizothera longirostris*		*Lophura rufa*		*Chrysolophus pictus* (L *Phasianus colchicus torquatus* Gm.	
Proveniência	Museu Konigsberg, Alemanha		França		Jardim Zoológico, Calcutá, India		Jardim Zoológico, Calcutá, Índia		China		Málaca		Jardim Zoológico, Calcutá, Índia		Jardim Zoológico, Rio de Janeiro, D.F., Basil	

Mantroni, em 1933, em trabalho que não obtivemos, assinala a tiflite verrucosa dos faisões na Itália.

Li, em 1933, estuda *H. isolonche* colhido em *Chrysolophus pictus* na China.

Clapham, em 1936, refere *H. isolonche* como parasito de perdiz na Inglaterra.

Baylis, em 1936, considera como sinônimas de *H. isolonche* as seguintes espécies: *H. putaustralis* Lane, 1914 *, *H. hastata* Chandler, 1926 e *H. lanei* Chandler, 1926 (nestas concordando com Maplestone, 1931), e, ainda, *H. variabilis* Chandler, 1926.

Baudette, em 1942, ràpidamente se refere ao *H. isolonche* nos Estados Unidos da América.

Com o abundante material que estudamos pudemos observar algumas variações, tais como:

a) maior ou menor desenvolvimento das saliências cuticulares interlabiais;

b) maior ou menor número de saliências cuticulares na região vulvar; estas saliências variavam de 1 a 4, sendo freqüentes as fêmeas com 3 saliências;

c) pequena oscilação na relação existente entre os espículos, que foi de 1:1 a 1:1,23 em 45 espécimes medidos (sòmente em dois machos encontramos o espículo maior com 1,91 mm. e 1,94 mm. de comprimento; com maior freqüência êle mede 1,69 mm. como podemos observar no Quadro I, onde referimos as medidas dos espículos e a respectiva relação espicular);

d) forma das papilas caudais dos machos, que podem ser grandes e largas ou roliças e finas;

e) número das papilas caudais dos machos; assim, estas variações podem ocorrer em qualquer dos grupos: pre-, ad- e post-anal. No grupo pre-anal é freqüente o aparecimento de mais uma papila, no lado direito, ao nível do início da asa caudal; no grupo ad-anal observa-se, com menos freqüência, o desaparecimento de uma papila no lado esquerdo do corpo; no grupo post-anal encontra-se, raramente, uma papila situada no lado esquerdo do corpo, anterior ao primeiro par de papilas post-anais.

A análise da bibliografia consultada, ao lado do conhecimento que adquirimos sôbre o *H. isolonche* Linstow, 1906, permitiu-nos organizar um quadro comparativo de medidas e, ainda, chegar às seguintes conclusões:

1) *H. neoplastica* Wassink, 1917 e *H. hastata* Chandler, 1926 são realmente idênticas a *H. isolonche;*

2) *H. interlabiata* Ortlepp, 1923 deve ser incluída na sinonímia de *H. isolonche;*

---

* Baylis propõe esta sinonímia de acôrdo com o reestudo que fêz do matreial tipo desta espécie, discordando, pois, de Maplestone (1931) que a considerara boa espécie, tendo como sinônimo *H. beramporia* Lane, 1914; na opinião de Baylis *H. beramporia* é espécie bem individualizada.

3) *H. putaustralis* Lane, 1914; *H. lanei* Chandler, 1926 e *H. variabilis* Chandler, 1926 devem ser consideradas boas espécies (a primeira se afasta de *H. isolonche* pela forma e dimensões dos espículos; a segunda pelos espículos maiores e a terceira por ter êstes órgãos de dimensões menores que na espécie de Linstow e, ainda, pela relação entre os espículos, que é bastante significativa);

4) a amostra estudada por Maplestone (1932), colhida em *Tragopan satyra,* não deve ser *H. isolonche,* ao contrário daquelas obtidas em *Euplocamus nycthemerus* e *Phasianus leucomelanus* que, na realidade, representam a espécie de Linstow.

BIBLIOGRAFIA

Baker, A. D.,
1933 Some observations on the development of the caecal worm, *H. gallinae* (Gmelin, 1790) Freeborn, 1923, in the domestic fowl. *Sc. Agr.* 13 (6) : 356-363.

Baker, A. D.,
1935 Studies on *Heterakis gallinae* (Gmelin, 1790) Freeborn, 1923, a nematode parasite of domestic fowl. *Trans. Canad. Inst. Toronto,* 1 (20) : 179-215, 5 figs.

Baker, A. D.,
1936 Studies on *Heterakis gallinae* (Gmelin, 1790) Freeborn, 1923, a nematode parasite of domestic fowls. *Trans. Canad. Inst. Toronto,* 2 (21) : 51-86, 15 figs.

Baylis, H. A.,
1925 On the identity of *Heterakis neoplastica* Wassink. *J. Trop. Med. London,* (28) : 362-364.

Baylis, H. A.,
1936 *The Fauna of British India, including Ceylon and Burma. Nematoda I (Ascaroidea and Strongyloidea)*, XXXVI + 408 pp., 182 figs. 1 map., Taylor & Francis, London.

Baylis, H. A.,
1944 Two new species of the nematodes genus *Heterakis. Ann. Mag. Nat. Hist. ser.* 2, 11 (8) : 621-630.

Baylis, H. A. & Daubney, R.,
1922 Report of the Parasitic Nematodes in the collection of the Zoological Survey of India. *Mem. Ind. Mus.,* 7 : 263-347.

Beaudette, F. R.,
1942 *Heterakis isolonche* Linstow (1906) in a feasant with remarks on tuberculosis and gapeworms. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.,* 101 (787) : 274-275.

Blanc, G. R.,
1913 La typhlite parasitaire du Nandou. *C. R. Acad. Sci., Paris,* 156 : 1272-1274.

BLANC, G. R.,
1914 *Heterakis parisi* et son rôle pathogène chez le Nandou. *Bull. Soc. Zool. Paris,* 39 : 78-82.

CANAVAN, W. P. N.,
1929 Nematodes parasites of vertebrates in the Philadelphia Zoological Garden. *Parasitology,* 21 : 63-102.

CANAVAN, W. P. N.,
1931 Nematode parasites of verbrates in the Philadelphia Zoological Garden and vicinity. II. *Parasitology,* 23 (2) : 196-229, pls. 8-9 figs. 1-25.

CHANDLER, A. C.,
1926 New *Heterakis* from Indian Galliform birds. *Ind. J. Med. Res., Calcutta,* 13-14 : 617-623, pls. 31-32.

CHAKRAVARTY, G. K.,
1944 On the nematode worms in the collection of the Zoological Laboratory, University of Calcutta. Part. 1 Families Heterakidae and Kathlaniidae. *J. Dept. Sc. Calcutta Univ.,* n. s. 1, pp. 70-77.

CLAPHAM, P. A.,
1933 On the prophylactic actions of Vitamin A in helminthiases. *J. Helminth.,* 11 (1) : 9-24.

CLAPHAM, P. A.,
1936 Further observations on occurence and incidence of Helminthes in Bristish Partridges. *J. Helminth.,* 14 : 61-68.

CLAPHAM, P. A.,
1940 On the Helmintes of corvid birds in the British Isles. *J. Helminth.,* 18 : 89-94.

CRAM, E. B.,
1927 Bird Parasites of the nematode Suborders Strongylata, Ascaridata, and Spirurata. *U. S. Nat. Mus.,* Bull. 140 : 71-75.

GEDOELST, L.,
1911 *Synopsis de parasitologie de l'homme et des animaux domestiques,* XX + 332 pp., 133 figs., Lierre & Bruxelles.

HSÜ, H. F.,
1932 A study of some parasitic Nematodes from Tonkin, Indo-China and of *Strongyluris brevicaudata* Mueller, 1894 from Hainan Island, South China. *Peking Nat. Hist. Bull.,* 7 : 99-115, 3 pls.

HUTYRA, F. & MAREK, J.,
1913 *Krankeiten der Atmungsorgane, der Verdauungsorgane, der Nervensystems, der Bewegungsorgane und der Haut,* XIV + 1 088 pp., 207 figs., 7 pls., Jena.

KLEE, R.,
1891 *Geflugelborse,* Leipzig.

KLEE, R.,
1897 *Geflugelborse* n.º 77.

LAL, M. B.,
1942 *Heterakis tragopanis,* a new species of the genus *Heterakis* from the intestine of a crimson-horned pheasant. *Curr. Sci. Bangalore,* 10-11 : 388-389, 2 figs.

LANE, C.,
1914 Suckered roundworms from India and Ceylon. *Ind. J. Med. Res. Calcutta,* 2 : 655-669, pls. 74-81.

LETULLE, M. & MAROTEL, G.,
1901 Nodules parasitaires des caecum chez le faisan. *Bull. Soc. Cient. Med. Vet. Path.,* 55, n. s. 19 (12) : 268-272, 2 figs.

LETULLE, M. & MAROTEL, G.,
1909 Etude des typhlites parasitaires. Nodules des caecuns parasitaires chez le faisan. *Arch. Parasit.,* 12 (3) : 361-368, 2 figs.

LI, H. C.,
1933 Parasitic Nematodes mainly from North China. Part. 3. *Oxyroidea. Chin. Med. J. Shanghai,* 47 : 1 307-1 325, 4 pls.

LINSTOW, O.,
1906 Nematoden des Zoologischen Museums in Konigsberg. *Arch. Naturg.* 1 : 252, pl 17, 7 figs.

LUCET, A. & HENRY, A.,
1911 La typhlite verruqueuse des Faisans et son parasite (*Heterakis isolonche* Linstow) *Bull. Soc. Centr. Med. Vèt.,* 65 : 320-333

MAPLESTONE, P. A.,
1931 Parasitic Nematodes obtained from animals in the Calcutta Zoological Gardens. Parts 4-8. *Rec. Ind. Mus. Calcutta,* 33 : 71-171 156 figs.

MAPLESTONE, P. A.,
1932 The genera *Heterakis* and *Pseudaspidodera* in Indian hosts. *Ind. J. Med. Res.,* 20 : 403-420, pls. 12-14.

MANTRONI, L.,
1933. Tiflite nodulare parassitaria in fagiano. *Nuova Veterinaia,* 11 (2) : 55-57.

ORTLEPP, R. J.,
1923 Two new Nematodes collected in the Zoological Gardens of London. *J. Helminth.,* 1 : 61-64.

RAILLIET, A. & LUCET, A.,
1892 Observations et expériences sur quelques helminthes du genre *Heterakis* Dujardin. *Bull. Soc. Zool. France,* 17 (5) : 117-120.

SAMBON, L. W.,
1908 The part played by metazoon parasites in tropical pathology. *J. Trop. Med. & Hyg.,* 11 (2) : 29-36.

SAUNDERS, C.,
1935 Studies of *Heterakis galinae* (Gmelin, 1790) Freeborn 1923, a nematode parasite of domestic fowls. *Trans. Canad. Inst. Toronto,* 20 : 179-215, 5 figs.

SCHWARTZ, B.,
1924 Occurrence of Nodular Typhlitis in Pheasants due to *Heterakis isolonche* in North America. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.,* 65 (5) : 622.

SIMON, F.,
1940 The parasites of the sage grouse *Centrocercus urophasianus. Univ. Wyoming Bull.,* 7 (1-6) : 77-100, 16 figs.

TRAVASSOS, L.,
1913 Sobre as especies brasileiras da sub-familia *Heterakinae*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 5 (3) : 271-318, ests. 27-31, 38 figs.

TRAVASSOS, L.,
1918 Observações sobre os *Heterakidae*. *Rev. Brasil. Sci.*., 2 : 93-97, 2 figs.

YAMAGUTI, S.,
1935 Studies on the Helminth Fauna of Japan. Part. 12. Avian Nematodes 1. *Jap. J. Zool.*, 6 : 403-431, 41 figs.

WASSINK, W. F.,
1916 *Over gazewllen by den Fazant, verrorzaakt door een Worm (Heterakis n. sp.) Ueber Geschwiils te beim Fazan, verussacht durch einen Wurm. (Heterakis n. sp.)*, 68 pp., J. H. de Bussy, Amsterdam.

WASSINK, W. F.,
1917 Over Gazwellen by den Fazant, veroorzaakt door een Worm, Heterakis neoplastica. *Nederl. Tydschr. Vergel. Geneesk.*, 2.

WU, H. W. & KUNG, C. C.,
1944 Some suckered Nematoda of fowl in Chungking. *Sinensia, Chungking*, 15 (1-6) : 119-123, 6 figs.

Estampa 1

Fig. 1 — Cecos de *Chrysolophus pictus* (L.), parasitados por *Heterakis isolonche* Linstow, 1906 e *Heterakis gallinae* (Gmelin, 1790).

ESTAMPA 1

Estampa 2

Figs. 2 e 3 — Cortes de ceco de *Chrysolophus pictus* (L.) com *Heterakis isolonche* Linstow, 1906 incluídos na parede do órgão.

ESTAMPA 2

Estampa 3

Heterakis isolonche Linstow, 1906

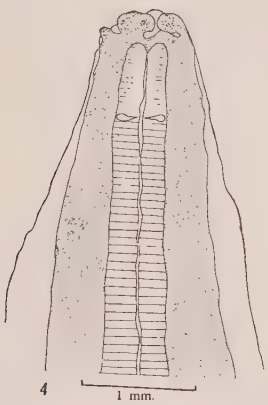
Fig. 4 — Extremidade anterior, segundo Ortlepp, 1923 (sin.: *Heterakis interlabiata* Ortlepp, 1923).

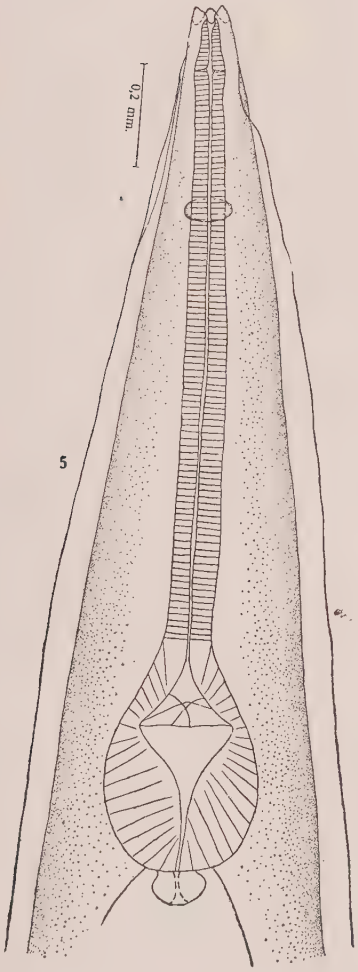
Fig. 5 — Extremidade anterior da fêmea. Original.

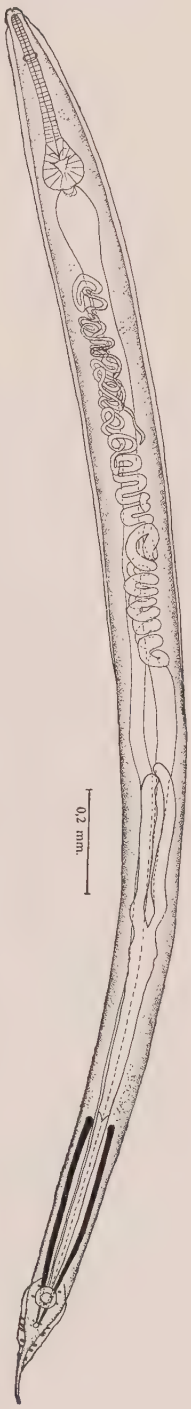
Fig. 6 — Macho, total. Original.

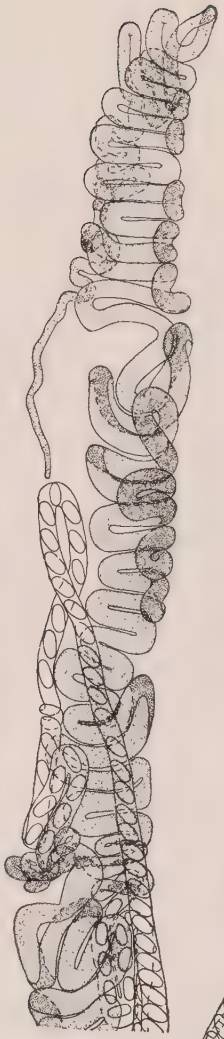
Fig. 7 — Aparelho genital da fêmea, dissecado. Original.

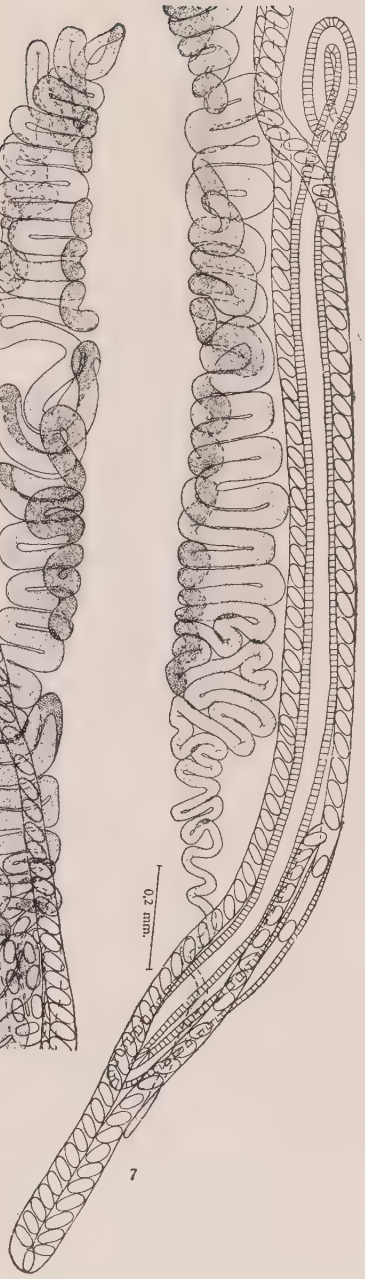
ESTAMPA 3











Estampa 4

Heterakis isolonche Linstow, 1906

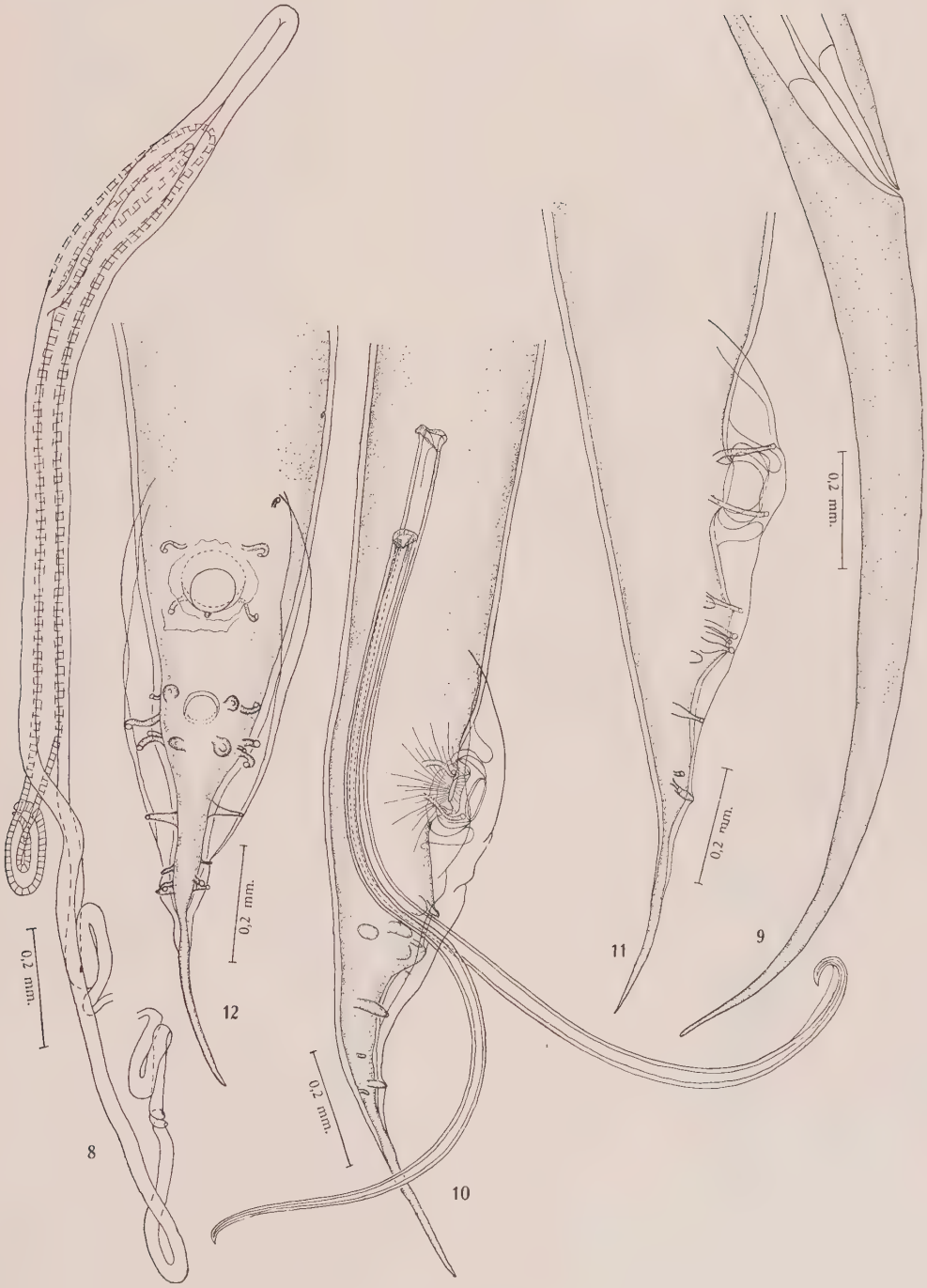
Fig. 8 — Ovejetor. Original.

Fig. 9 — Extremidade posterior da fêmea. Original.

Figs. 10 e 11 — Extremidade posterior do macho, vista lateral. Originais.

Fig. 12 — Extremidade posterior do macho, vista ventral. Original.

ESTAMPA 4



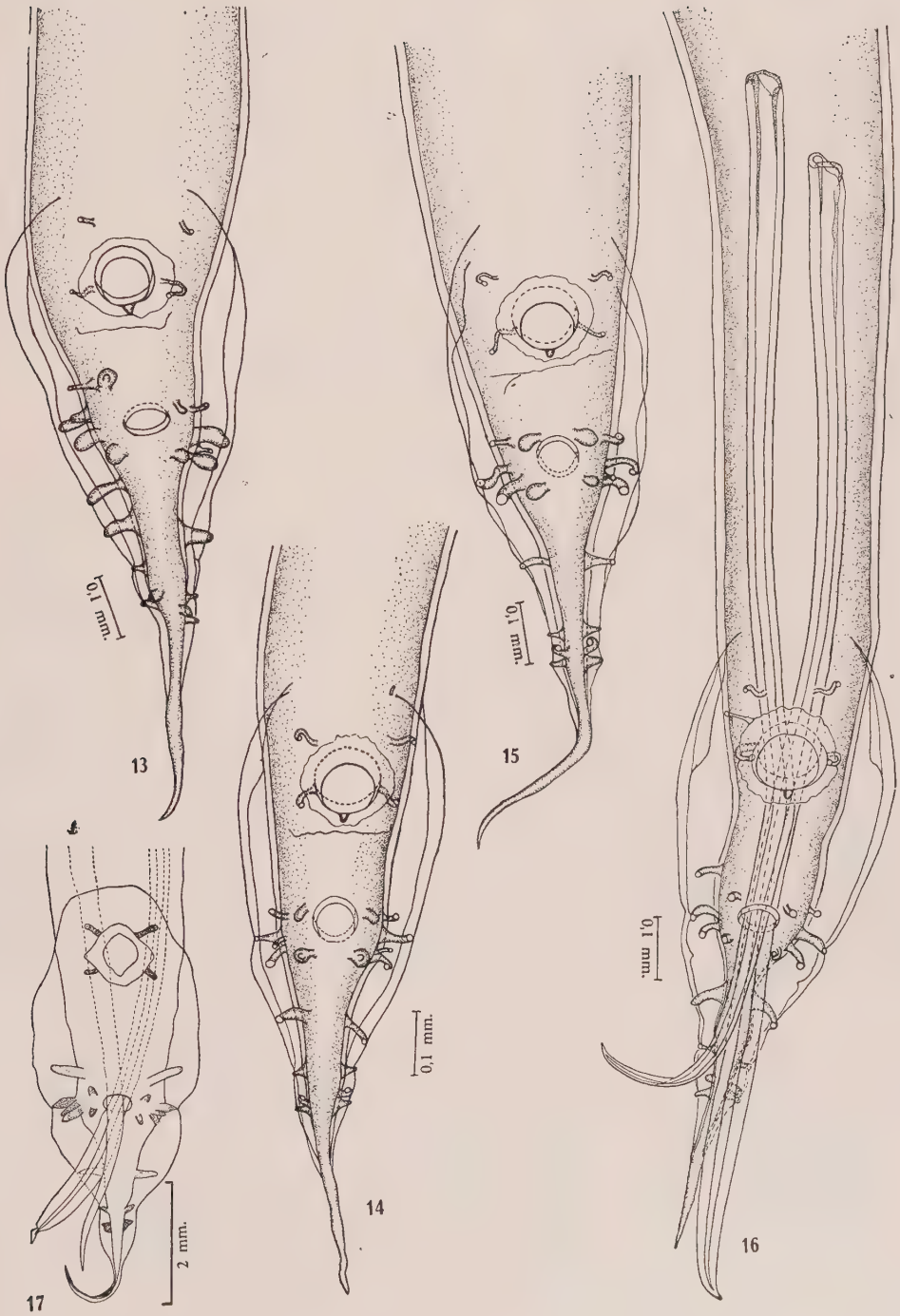
Estampa 5

Heterakis isolonche Linstow, 1906

Figs. 13 a 16 — Extremidade posterior do macho, vista ventral. Originais.

Fig. 17 — Extremidade posterior do macho, vista ventral, segundo Ortlepp, 1923 (sin.: *Heterakis interlabiata* Ortlepp, 1923).

ESTAMPA 5



Estampa 6

Heterakis isolonche Linstow, 1906

Fig. 18 — Boca, vista de frente. Original.

Fig. 19 — Faringe. Original.

Fig. 20 — Divertículos da vesícula seminal. Original.

Figs. 21 e 22 — Extremidades proximais dos espículos. Originais.

Figs. 23 e 24 — Extremidades distais dos espículos. Originais.

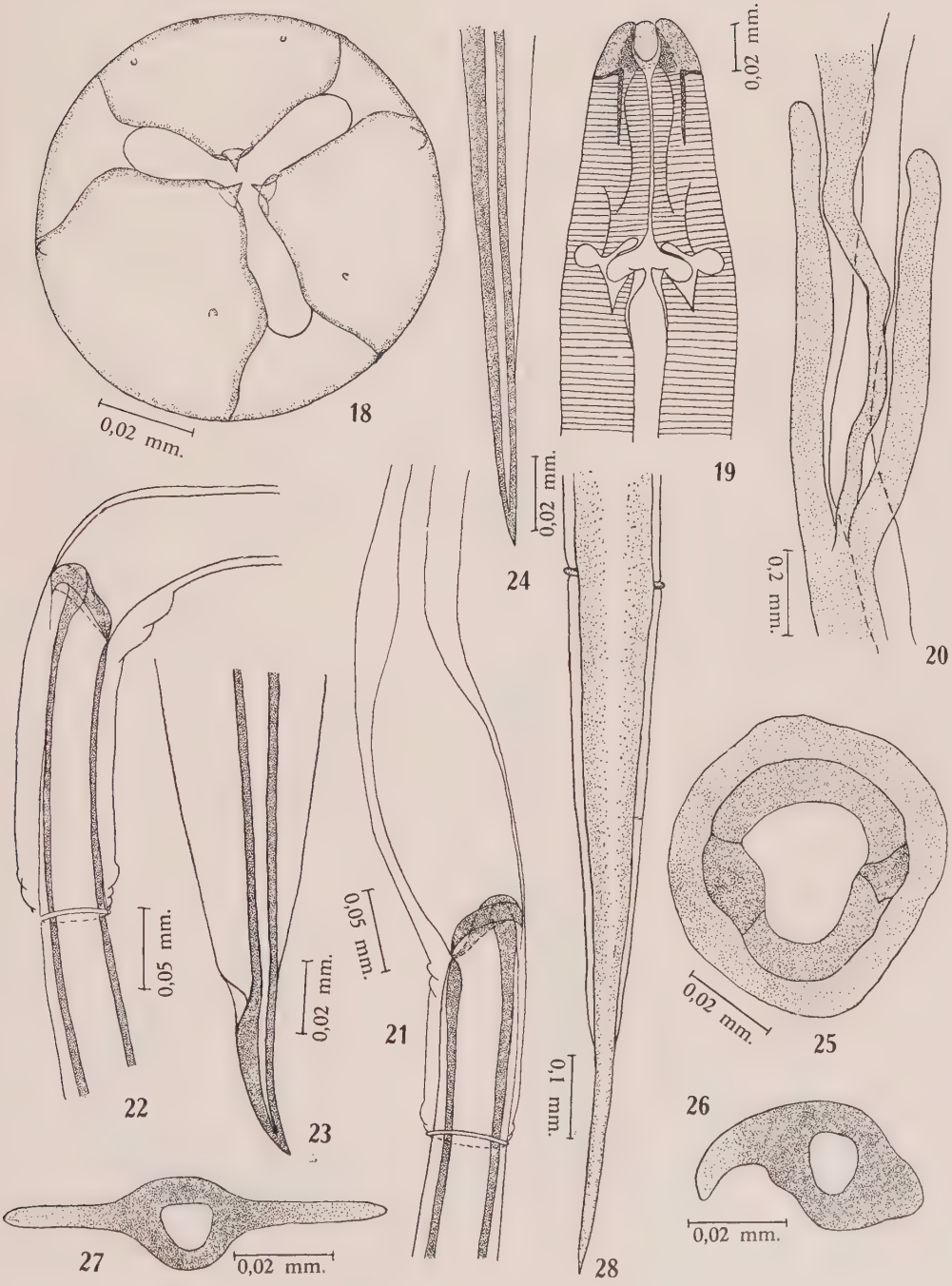
Fig. 25 — Extremidade proximal do espículo da fig. 22, de frente. Original.

Fig. 26 — Corte transversal da região média do espículo da fig. 22. Original.

Fig. 27 — Corte transversal da região média do espículo da fig. 21. Original.

Fig. 28 — Cauda da fêmea, vista ventral. Original.

ESTAMPA 6


0,02 mm.
18
0,02 mm.
19
0,2 mm.
20
0,02 mm.
24
0,05 mm.
22
0,02 mm.
23
0,05 mm.
21
0,1 mm.
28
0,02 mm.
25
26
0,02 mm.
27
0,02 mm.

Estampa 7

Heterakis gallinae (Gmelin, 1790)

Fig. 29 — Macho, total. Original.

Fig. 30 — Extremidade anterior. Original.

Fig. 31 — Espículo maior. Original.

Fig. 32 — Espículo menor. Original.

Fig. 33 — Aparêlho genital da fêmea, dissecado. Original.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

ESTAMPA 7

Estampa 8

Heterakis gallinae (Gmelin, 1790)

Fig. 34 — Ovejetor. Original.

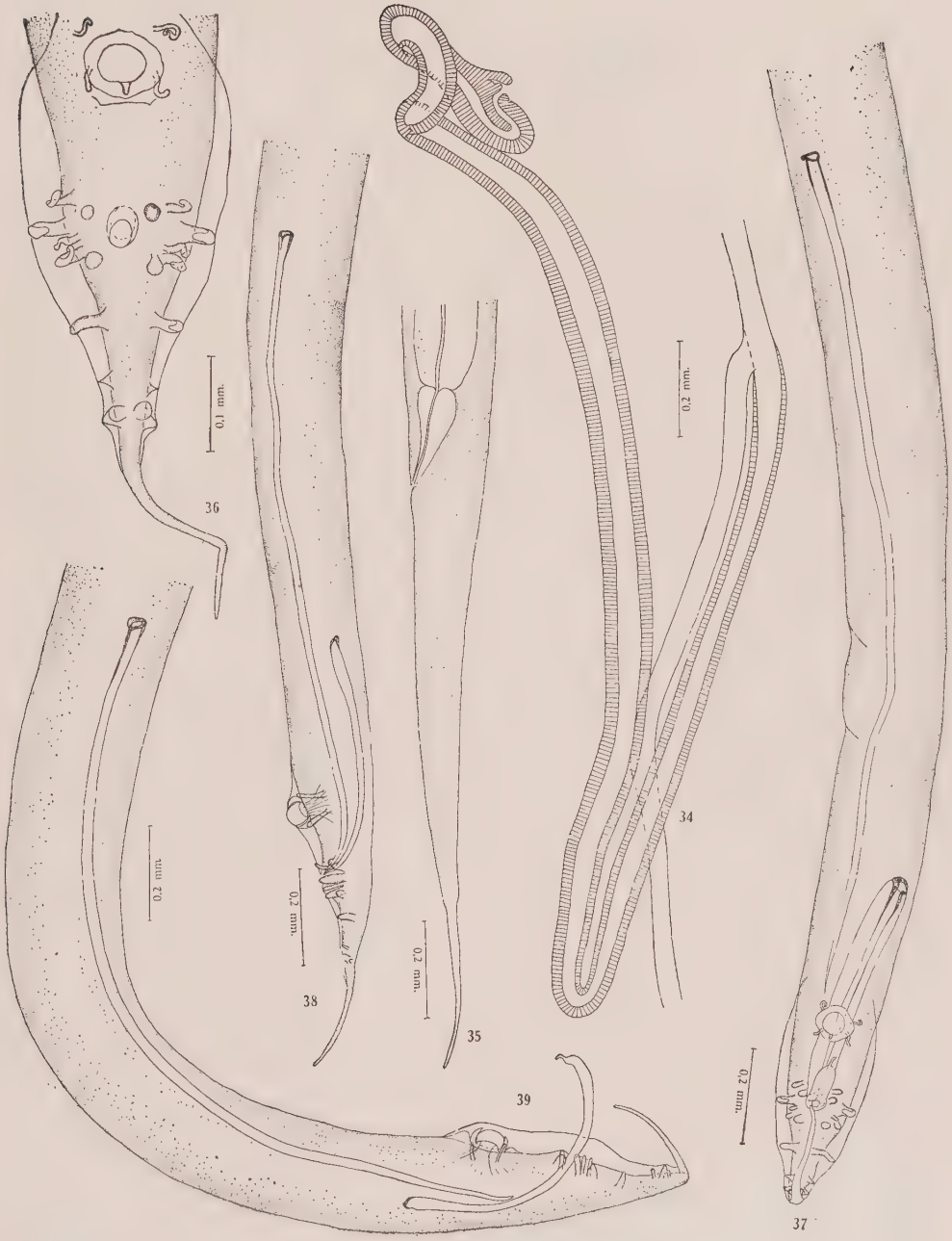
Fig. 35 — Extremidade posterior da fêmea. Original.

Figs. 36 e 37 — Extremidade posterior do macho, vista ventral. Originais.

Figs. 38 e 39 — Extremidade posterior do macho, vista lateral. Originais.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

ESTAMPA 8



Estampa 9

Heterakis gallinae (Gmelin, 1790)

Fig. 40 — Boca, vista de frente. Original.

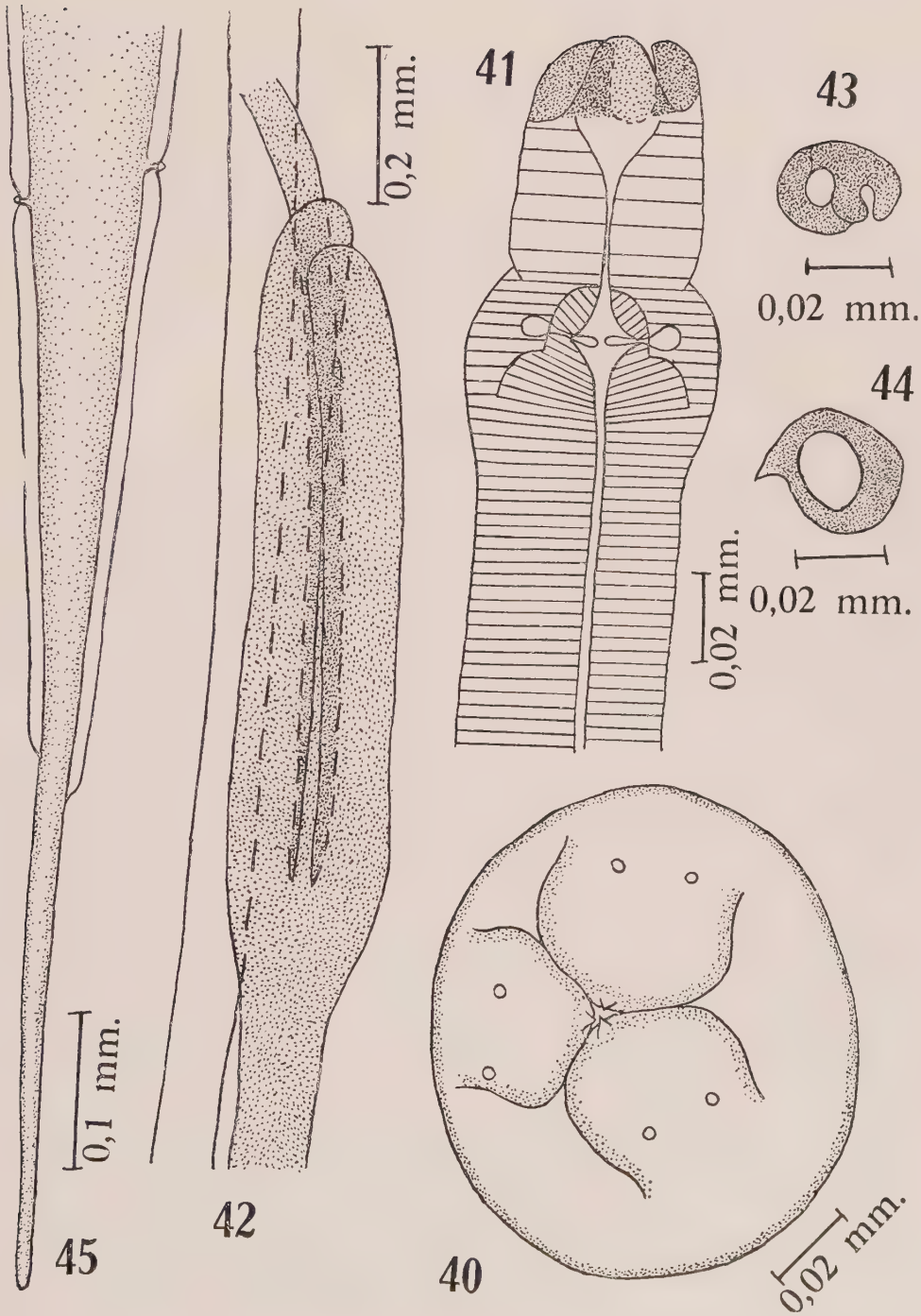
Fig. 41 — Faringe. Original.

Fig. 42 — Divertículos da vesícula seminal. Original.

Figs. 43 e 44 — Cortes transversais do espículo maior, na região média (fig. 43) e próximo à extremidade distal (fig. 44). Originais.

Fig. 45 — Cauda da fêmea, vista ventral. Original.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953



Multiplicações celulares e tumores induzidos por virus

O cancer como infecção

pelo

Dr. F. Rocha Lagôa [1]

Desde as éras mais remotas da medicina que se conhece a existência entre os organismos pluricelulares de proliferações celulares aberrantes que se designa com o nome de cancer.

Êsses tumores se desenvolvem à custa de transformações das próprias células do hospedador onde crescem. Tem sido assinalados além de no homem entre caninos, felinos (gatos), eqüinos, bovinos, ovinos, roedores (ratos), (coelhos), aves (galinhas), (patos), (pombos), batráquios (rãs), (salamandras), répteis, peixes, insetos e em varias plantas.

Constituem, pois, os tumores uma enfermidade de caráter geral entre os seres vivos, não sendo peculiar nem específica do homem ou de qualquer espécie animal ou vegetal.

Pode-se definir um tumor como sendo crescimentos celulares que se desenvolvem independentemente dos organismos que lhes fornecem nutrição, com estrutura freqüentemente atípica e crescimento por vêzes indefinido. (21)

As multiplicações encontradas nas células tumorais, são progressivas, desordenadas e sem limites, prejudicando os demais tecidos que constituem o organismo, os quais, finalmente, são invadidos e destruídos pelo tecido neoplásico. Por vêzes, alguns de seus elementos são levados a distancia pela corrente sangüínea e implantando-se em outro ponto, determinam novas proliferações tumorais, que são chamadas de metástases.

Constitue, pois, característica fundamental dos teicdos tumorais as multiplicações desordenadas que apresentam as células que os integram e que não sendo controladas pelos organismos onde se desenvolvem invadem e prejudicam os demais tecidos.

Na realidade, entre os fenômenos que caracterizam os seres vivos, chama a atenção pelo pouco conhecimento ainda existente a respeito das causas que o determinam, a divisão celular.

A apreciação cuidadosa das multiplicações celulares apresentadas pelos organismos pluricelulares normais, revela a existência nos mesmos de características impressionantes de organização, principalmente quando consideramos êsses organismos como provenientes de um simples ovo fecundado, onde multiplicações e diferenciações sucessivas logram formar o complexo e harmônico organismo adulto. As multiplicações celulares que encontramos em organismos já formados e hígidos são sempre equilibradas e úteis ao mesmo. Se convenientes, podem ser presentes ou ausentes; assim, são extraordinàriamente ativas nos tecidos em formação e nos responsáveis pelas regenerações reparadoras; estacionárias nos tecidos com vitalidade íntegra e diminuídas na senilidade quando constituem sinal precursor da morte.

Por vêzes, sem causa aparente, no decurso da vida de seres já organizados, vemos surgir abruptamente, proliferações celulares desordenadas e grandemente ativas, com características já antes referidas e que constituem os tumores que geralmente conduzem o organismo à morte. Êsses tumores, têm comumente sua nomenclatura em base de ordem anatômica o que permite diferenciá-los em diferentes tipos. Assim, são chamados tumores benignos aquêles geralmente encapsulados por tecido fibroso, que retardam seu crescimento, e cujas células, apesar de anormais, não apresentam os sinais de malignidade características dos denominados tumores malignos, que possuem, além disso, maior invasividade e capacidade de produzir metástases. De acôrdo com sua histogenese, isto é, origem celular dos elementos que os geram, empregam-se designações para melhor caracterizá-los, assim o têrmo carcinoma é aplicável aos tumores que apresentam tecido epitelial, seja pavimentoso ou glandular. Desta forma um tumor de pele pode ser chamado de epitelioma ou carcinoma epidermóide e um tumor da mucosa gástrica ou intestinal de adenocarcinoma. O têrmo sarcoma aplica-se aos tumores do tecido conjuntivo ou muscular, assim um tumor de tecido conjuntivo fibroso é denominado fibro-sarcoma ,de cartilagem condro-sarcoma, de vaso sangüínio angio-sarcoma, de tecido linfático linfo-sarcoma, de músculo estriado rabdo-mio-sarcoma, etc.

Os tumores denominados carcinomas e sarcomas são freqüentemente anaplásicos, apresentando no entanto uma pequena semelhança na estrutura histológica, com a apresentada pelo tecido normal de onde êle se origina. Para designarem-se os tumores chamados benignos, isto é, com crescimento mais limitado, costuma-se omitir o têrmo sarcoma e acrescentar a designação "oma" ao tecido ao qual êles se aproximam e se originam, assim diz-se, fibroma, osteoma, mixoma, angioma, adenoma, lipoma, etc.

Nos tecidos normais também encontramos multiplicações, mas desenvolvem-se elas então ordenadamente, geralmente em proporções logarítimicas, de acôrdo com um plano geral e de forma a não prejudicar os tecidos vizinhos.

As causas reais que determinam as divisões celulares ainda nos escapam, mas já algumas verificações experimentais nos permitem conhecer alguns fatôres que influenciam as mesmas.

A primeira dentre elas e que tem suscitado numerosos trabalhos é a chamada relação núcleo-plasmática. Boveri, (8) após engenhosas experiências logrou demonstrar a existência de uma relação entre o tamanho de uma célula e a massa de seu núcleo. Fragmentou êste autor um ovo de Echinoderma em duas partes, uma das quais anucleada, esta última porção quando fecundada por um espermatozóide entra em segmentação e dá uma blástula metade menor que aquela resultante da segmentação do ovo inteiro. No entanto, esta blástula leva o mesmo número de células que a blástula normal, ainda que suas células sejam em média duas vêzes menor que a normal.

Podem-se exprimir êsses resultados dizendo que as células de segmentação formadas dependem de um só pronúcleo, quer dizer de uma só massa nuclear representando o valor 1/2, as células menores são também de tamanho reduzido a 1/2.

Inversamente, o ovo de *Strongylocentrotus,* possuindo acidentalmente um número duplo de cromosomas, dá células de segmentação duas vêzes maiores que normalmente.

Zur Strassen, (44) mostrou, trabalhando em ovos gigantes de Ascaris, que a coalescência de 2 cocitos no momento da fecundação e da formação das membranas, faz com que o número e a disposição típica das células de segmentação sejam normais, mas seu volume torna-se sempre dobrado. Suas observações demonstram que o aumento da massa nuclear é acompanhada do aumento da massa citoplasmática.

Hertwig admitia que o núcleo e o citoplasma dependem estritamente um do outro; que o núcleo aumenta por intermédio do citoplasma, e que existem no citoplasma substâncias nucleares chamadas cromídios.

Durante a segmentação do ovo dá-se um caso especial nas relações núcleo-plasmáticas, pois ela se efetua sem aumento da massa citoplasmática.

O oocito antes de estar maduro e fecundável, atravessa um longo período de crescimento, durante o qual não se divide, crescendo então a massa citoplasmática muito mais que a massa nuclear, êste período é comparável ao crescimento assimilador e o oocito maduro é uma célula que chegou ao máximo da tensão núcleo-plasmática. A fecundação tende a diminuir a relação $\frac{N}{P}$ com a constância de espécie, introduzindo massas cromáticas estranhas. Quando a segmentação começa, a massa nuclear aumenta entre cada divisão, enquanto que a relação $\frac{N}{P}$ aumenta contìnuamente; quando ela atinge o valor característico da espécie, $\frac{N}{P} = K$, a segmentação para ou diminue consideràvelmente.

Êste é o esquema geral proposto pelos que estudaram o assunto.

Loeb, (24) admite, concordando com as observações de Boveri, que o volume de cada um dos núcleos de segmentação é sensìvelmente igual ao dos 2 pronúcleos e em conseqüência a massa nuclear é aproximadamente o dôbro em cada divisão. Isto faz supor uma síntese de nucleinas. Faure-Frémiet, (18) faz três interessantes reparos a êste respeito:

1.º) Esta síntese não pode se efetuar senão às expensas das substâncias citoplasmáticas. Com efeito, a massa total do ovo não aumenta, a massa nuclear sim, portanto a do citoplasma deve evidentemente diminuir.

2.º) O trabalho químico que corresponde a esta síntese cessa em meio anaeróbio, êle não pode se efetuar se no ovo não há fenômenos da oxidação.

3.º) A síntese das nucleinas só se poderia efetuar de acôrdo com um processo de autocatalise, pelo menos durante o 1.º período, quando a massa nuclear aumenta proporcionalmente à massa já formada. Em outras palavras, êste autor considera as substâncias nucleares como um produto de reações, servindo de catalisador em sua própria síntese; entretanto, a reação citoplasma — substância nuclear tende para um equilíbrio após um período de aceleração contínua.

Admite ainda que a substância nuclear é ou contém um fermento específico e que o limite da reação coincide com a diminuição das substâncias citoplasmáticas transformáveis.

Della Valle, (14) determinou que as massas de substâncias características do núcleo (nucleinas) crescem lentamente durante o crescimento funcional, o entumecimento profásico corresponderia ao crescimento da divisão e seria um fenômeno físico.

Para êste autor as modificações nucleares são precedidas pelo entumecimento profásico que dependeria do aparecimento no citoplasma de uma *substância x, modificando as condições de solubilidade recíproca das fases coexistentes*. Quer dizer, o estado físico-químico do citoplasma pode condicionar o estado do núcleo.

Outros interessantes trabalhos experimentais procurando demonstrar as causas capazes de determinar a divisão celular foram realizados por Brachet (9) trabalhando com ovos de ouriço do mar *(Paracentrotus lividus)*, Dalc) (13) em ovos de *Asterias* e Faure-Frémiet (17) em ovos de *Sabellaria*. Êsses autores demonstraram que os oocitos colocados artificialmente, antes da maturação, em contacto com água do mar, são inhibidos e coagulados no estado em que se encontram no momento da sua postura forçada. Êsses oocitos são contudo fecundáveis, mas sua fecundação é sempre polispérmica. Verificou Brachet que em numerosos ovos polispérmicos os núcleos espermáticos, penetrados no oocito, ganham o aspecto morfológico de núcleo daquele. A composição, ou estado físico do citoplasma impõe à cromatina nuclear uma estrutura morfológica determinada. O estado do citoplasma condiciona a estrutura nuclear.

Experiências realizadas por Chambers (12) com microdisecção mostram que o ciclo de transformação citoplásmica durante a mitose é o seguinte:

1) Na formação do monoaster; a maior parte do citoplasma do ovo é gelificado.

2) As radiações do monoaster desaparecendo, o citoplasma torna-se fluido, a massa líquida da esfera se separa e vai para os 2 polos do núcleo.

3) As duas esferas polares se envolvem de novas radiações e o citoplasma se gelidifica novamente.

4) A fluidez do citoplasma reaparece no equador da célula; as duas esferas são preparadas, o fuso é cortado, observa-se a constrição celular.

As conclusões dessas experiências são assaz claras. Os diferentes aspectos sucessivos da figura acromática motivam mudanças no estado coloidal do citoplasma.

Dustin (16) procurando estudar as causas determinantes das mitoses verificou que um sôro estranho inoculado na cavidade peritonal de camundongos, provoca mitoses em células de vários órgãos após um período de latência de 2-3 dias. Os órgãos envolvidos são: timo, pele, gânglio linfático, epitélio intestinal. Acredita êste autor que a mitose é estimulada pela libertação de substâncias provenientes de outras células, em processo de degeneração.

Gutherz (20) acredita que núcleos degenerados produzem substâncias (necrohormônios), que provocam as prematuras e incompletas divisões de maturação observadas em oocitos de mamíferos imaduros e formação de oligoespirema em espermatozóides de moluscos.

Chambers e Scott (12) acreditam que durante a autolise de células de tumores malignos há produção de uma substância que aumenta o crescimento dos tecidos tumoraes *in vitro*.

Êste estimulante, acreditam êles, ser derivado do núcleo de células autolizadas.

Haberlandt, (22) chegou a elaborar uma teoria de hormônios mitóticos para as plantas.

Estudos de Caspersson, Landstrom-Hyden e de J. Brachet mostram que existe uma relação estreita entre o teor de ácido ribonucléico de uma célula e sua aptidão em sintetizar proteinas. Estudos modernos mostram que o ácido timonucléico é formado de outro ácido nucléico que é o ácido ribonucléico, e que êste ácido timonucléico aumenta com o número de horas de desenvolvimento. A reação de Feulgen revela que durante a segmentação do ovo o teor do núcleo em ácido timonucléico modifica-se profundamente.

Segundo Brachet (10) a concentração e localização dos ácidos nucléicos durante a divisão seria a seguinte: profase; o nucleolo desaparece sem se poder precisar o que acontece com seu ácido nucléico, mas o teor dêste ácido no cromosoma aumenta (vem de nucleolo?).

Metafase; é ácido ribonucléico passa em parte para a figura acromática, o restante citoplasma contém muito pouco. O teor de ácido ribonucléico e timonucléico nos cromosomas continua a aumentar.

Telofase; volta a produzir-se um retorno ao estágio inicial. O citoplasma se recarrega em ácido ribonucléico e volta à sua estrutura. A fi-

gura acromática se desfaz e o nucleolo reaparece. O teor de ácido ribonucléico da cromatina decresce.

As constatações citoquímicas em ovos de ouriços do mar sugerem com efeito uma participação do ácido ribonucleico na síntese do ácido timonucleico.

SCHULTZ e CASPERSSON (10), consideraram que a heterocromatina é relativamente inócua sob o ponto de vista genético, mas que ela seria o centro de síntese dos ácidos nucleicos; assim êles controlariam a síntese dos gens.

Para CASPERSSON a heterocromatina contém dois tipos de ácidos nucléicos e grandes quantidades de histonas. O nucleolo seria constituído por histonas associadas ao ácido ribonucléico em proporções mais ou menos elevadas.

Passadas sumàriamente em revista as causas prováveis e como se processam as multiplicações normais, seria interessante apreciar quais as causas determinantes das multiplicações tumorais.

Múltiplas têm sido as teorias apresentadas para explicar a origem do cancer. Citemos algumas das mais conhecidas:

CONHEIN (19) em 1875 propôs a chamada teoria embrionária, segundo a qual os tumores se formaria mà custa de uma má formação embrionária, durante a formação do embrião normal. Devido a uma alteração cinética, um grupo de células se isolariam não participando do crescimento geral, essas células, permaneceriam em latência durante um tempo mais ou menos prolongado, guardando no entanto tôda sua potencialidade de crescimento, que em certo momento, sob a influência de um estímulo desconhecido, voltaria novamente a se desenvolver dando origem a tumores.

Pela teoria chamada de irritação se admitiria que o cancer sòmente se desenvolveria após ações irritantes mecânicas, químicas ou inflamatórias repetidas.

Pela teoria de reclusão celular de RIBBERT, o importante seria o isolamento, seja congênito ou adquirido de um grupo de células.

Segundo ela a autonomia celular teria que interessar um tecido que normalmente vive em simbiose (epitelial e conjuntivo), por exemplo uma queimadura determinaria uma cicatrização onde se formaria um grupo de células com as características potenciais imaginadas pelo autor.

WARBURG em 1924, após estudos analíticos da bioquímica dos tecidos cancerosos, criou uma teoria bioquímica de cancerização, que coloca na própria intimidade da célula normal a perturbação que acarreta o seu crescimento desorganizado sem perda de sua vitalidade. Para êste autor a modificação essencial seria na respiração da célula cancerosa, que estaria aumentada. A célula cancerosa disporia de outra fonte de energia comparável à que dá a respiração; e que seria a glicolise, que consiste na capacidade de cindir uma molécula de glicose em duas moléculas de ácido lático por uma reação exotérmica que liberta 24.000 calorias por molécula-grama de glicose. Os tecidos normais, que respi-

ram oxigênio não possuiriam esta capacidade ou a teriam muito fracamente. Os tecidos embrionários apresentam maior intensidade respiratória, em virtude de possuírem poder glicolítico em anaerobiose. As células cancerosas, possuiriam uma forte glicolise aeróbica, possuindo portanto duas fontes de energia: a respiração e a glicolise que determinariam a sua potencialidade de crescimento e multiplicação.

Finalmente, temos as teorias parasitárias e infecciosas do cancer. Onde vemos atribuída a responsabilidade da moléstia a determinantes como vermes e virus.

Apreciando-se as causas determinantes do aparecimento de tumores à luz dos modernos estudos experimentais, verificamos que numerosos são os elementos que se têm mostrado capazes de desencadear a formação de hiperplasias celulares.

Têm sido êles classificados de acôrdo com sua natureza em químicos, físicos e filtráveis ou biológicos.

Outros, mais simplesmente, como Greenstein (12), os separaram em extrínsecos ou intrínsecos.

Entre os primeiros, coloca tôdas as substâncias cancerígenas conhecidas como: alcatrão, hidrocarbonatos policíclicos (1.2.5.8. dibenzoantraceno 1.2 benzoantraceno, 3.4 benzopireno, 20 metil-colantreno, 20 etil-colantreno, 20 isopropril-colantreno, e 20 dimetil-colantreno), corantes azóicos (vermelho escarlate, aminoazotulueno, p. dimetil-aminobenzeno); hidrocarbonetos alogenados alifáticos (tetra-cloretos de carbono, clorofórmio, N acetil-aminofluoreno), sais de rádio, de tório, raios X, radiações ultravioleta, cisticercos, metais como, cromo, cobalto e arsênico.

Entre os intrínsecos, coloca os hormônios estrogênicos e os virus.

Entre os virus, vários têm sido descritos como capazes de produzirem tumores nos mais diversos animais. Assim, têm sido responsabilizados como causadores de sarcomas (37), (36) e epiteliomas (7) em galinhas, patos, passarinhos, pombos; adenocarcinomas (5), (6) em ratos, papilomas (39) e mixomas (2) em coelhos; carcinomas (37) em rãs e finalmente papilomas (15) e linfo-sarcomas (35) em cães.

Philibert (30), com muita propriedade, denominou os virus indutores de tumores de citocinéticos, diferenciando-os assim dos demais virus que geralmente produzem lesões destrutivas dos tecidos que atacam os quais, por isso, designou-os de citolíticos.

Presentemente, portanto, é fato conhecido e provado que agentes patogênicos com características de virus citocinéticos determinam a formação de tumores, que por vêzes possuem até características de malignidade.

Êsses virus citocinéticos possuem, como os demais, um certo número de características fundamentais, comuns a todos êles. Assim a propriedade de atravessar as velas bacteriológicas tipo Berkefeld e Chamberland; a capacidade de só se desenvolver no interior celular; o poder de freqüentemente, mas não constantemente, determinar, nas células parasitárias, o aparecimento de inclusões características.

O poder infeccioso é elevado em alguns casos como no mixoma dos coelhos, que se transmite por contágio direto ou indireto e epitelioma das aves. Propriedades infecciosas menos acentuadas mas presentes, encontramos no sarcoma de Rous das galinhas e papiloma de Shope dos coelhos. Por vêzes, faz-se necessário certa predisposição ligada à hereditariedade para facilitar a infecção como no adenocarcinoma de Bittner dos ratos.

Outras vêzes, faz-se indispensável o contacto direto do virus com o tecido a êle sensível para que haja infecção, tal é o caso do papiloma oral do cão. A inoculação em tecido diverso do sensível nada resulta (15).

Em outros, é imprescindível a existência de certas condições de ordem fisiológica, durante o contágio para se desenvolver a moléstia, como no sarcoma venéreo do cão (35).

A especificidade para espécies sensíveis é quase absoluta entre os virus citocinéticos conhecidos. Apenas alguns dêles ocasionam a doença em espécies muito próximas daquelas que originalmente atacam. Tal é o caso do virus do epitelioma da galinha, que pode determinar a doença e mesmo atenuar-se com a adaptação em pombos. O mixoma dos coelhos só ataca o coelho doméstico e o coelho silvestre brasileiro. O virus do sarcoma das galinhas tem se mostrado susceptível de infectar patos jovens. O virus do papiloma dos coelhos silvestres da América do Norte (cotton-tail rabbits), pode causar a doença no coelho doméstico. No que concerne ao agente do sarcoma venéreo do cão, não se conhece ainda outro animal sensível a êle, tendo resultado negativas tôdas as experiências realizadas em várias espécies de animais, inclusive a raposa brasileira, para a reprodução da moléstia. O próprio cão só apresenta susceptibilidade à moléstia quando presentes determinadas condições constitucionais e fisiológicas.

Parece-nos haver uma certa relação entre a existência do poder infeccioso e a propriedade de citocinese, sendo ela tanto maior quanto menor o poder infeccioso como no sarcoma do cão e inversamente, um elevado poder infeccioso implica na diminuição da propriedade citocinética ,como nos casos do mixoma dos coelhos e epitelioma das aves, onde há uma elevada infecciosidade e poder citocinético relativamente baixo. A nosso ver, êsses dois últimos virus acham-se situados entre os citolíticos e os citocinéticos, possuindo algumas propriedades de uns e de outros e carecendo das características mais marcantes que individualizam cada um dêles. Por sua vez, o virus de sarcoma de Rous, papiloma de Shope, adenocarcinoma de Bittner, carcinoma das rãs, papiloma oral do cão e sarcoma venéreo do cão, possuem claramente as características típicas dos virus citocinéticos, sendo o último dos menos infecciosos e mais exigentes em relação às condições fisiológicas do hospedeiro para nêle se implantar e desenvolver sua atividade cinética.

Os fatos referidos em relação a êsses virus mostram a existência entre êles de um fenômeno bem conhecido dos biologistas, que é a capacidade de adaptação que induz modificações para o exercício de determinada função, encontrando-se então exacerbação de algumas propriedades e diminuição de outras. Dêsses fenômenos decorre o apareci-

mento dos diversos tipos microbianos dentro de uma mesma espécie, que alcançam por vêzes cifras elevadas, como entre os pneumococos que se tem encontrado acima de 30 tipos distintos.

As verificações experimentais realizadas pelos diversos investigadores, que trabalharam em tumores produzidos por virus, deixam claramente demonstrado serem êles tumores verdadeiros, possuindo mesmo alguns dêles características de malignidade.

As propriedades de citocinese apresentadas por êsses virus provàvelmente decorrem da perturbação do equilíbrio núcleo-plasmático que sofrem as células parasitadas e causado pelo desenvolvimento endocelular do virus e também possìvelmente, por atuarem êles como co-enzimas sôbre os elementos do sistema enzimático celular responsáveis pelas sínteses e estímulos que determinam a divisão celular, a semelhança do que se observa experimentalmente em relação à multiplicação de ovos de seres inferiores, induzidos por estímulos introduzidos no citoplasma celular.

Essas propriedades citocinéticas que êsses virus apresentam permitem-nos ainda situá-los em posição que vem a preencher mais um ponto de evolução do mundo biológico, mostrando-nos a quanto as modificações adaptativas de um parasitismo estritamente endocelular pode conduzir. Essa adaptação os leva provàvelmente à simplificação da forma, das funções nutritivas, a quase e por vêzes absoluta especificidade, guardando no entanto a infecciosidade para os organismos sensíveis para assim poderem se estabelecer em novas células a serem parasitadas. Com o desenvolvimento da capacidade de estimular o aparecimento de novas células a êles sensíveis, vem a diminuição do poder de transmissibilidade aos outros organismos, por não se fazer mais tão necessária a preseça das células sensíveis de outros seres ao seu desenvolvimento.

Apresentando já algumas similaridades com os virus citocinéticos mais típicos, vamos encontrar os gens responsáveis pela determinação dos caracteres hereditários e existentes normalmente no interior dos cromosomas nos animais e também difusos no citoplasma de plantas (plastídeos).

Possuem os gens, como os virus citocinéticos, a propriedade de induzir multiplicações celulares, específicas e em determinado sentido que são orientadas em sentido de organização útil ao conjunto orgânico onde se processam ao contrário do que acontece nas provocadas pelos virus citocinéticos, que apesar de serem também específicas e orientadas em determinado sentido são prejudiciais ao organismo onde se desenvolvem. Outras similaridades existentes entre os gens e os virus são; sensibilidade de ambos aos raios X, que provocam mutações nos gens e modificação na ação de alguns virus citocinéticos (33); presença entre ambos elementos, nos já analisados quìmicamente, de elevado teor de ácido timo e ribonucleico; propriedades idênticas de auto-síntese (gens) e auto-formação (virus) à custa de proteinas celulares. Esta capacidade pode-se admitir, hipotèticamente, à luz dos conhecimentos atuais, que poderia se processar, em relação à sua formação específica, à seme-

lhança de como as globulinas séricas se transformam em anticorpos específicos sob a ação dos antígenos que atuam como modelos estimuladores de sua formação e imprimidores de sua especificidade, e sua síntese por uma ação enzimática sôbre as proteinas nucleares do tipo daquela que determina a formação da pepsina à custa do pepsinogênico pela ação ativadora de um co-enzima.

Tem-se descrito numerosos gens como responsáveis pela regularidade das mitoses e meioses (40) (11) (40) (4).

Também já se tem demonstrado que gens podem atravessar a membrana nuclear (41) e que os plastídeos dos vegetais são verdadeiros gens livres no citoplasma.

Êsses fatos levam-nos a considerar a hipótese da possível existência de elementos ainda não determinados pelas técnicas usuais e que estariam situados entre os virus citocinéticos e os gens, com poder infeccioso diminuído ao extremo, sendo pràticamente ausente nas condições de higidez do organismo sensível, como o que quase já encontramos entre os virus citocinéticos conhecidos e possuidores de grande capacidade de citocinética e ainda como a existente entre os gens, mas que induziriam multiplicações celulares anormais e desorganizadas nos organismos atacados como o fazem os virus citocinéticos.

Devido à sua quase ausência de poder infeccioso, se faria necessária a existência entre os organismos a êles sensíveis e atacados de uma série de condições especiais de predisposição diminuidoras da resistência natural, tais como, fatôres ligados à hereditariedade, idade, endocrinismo, ação predisponente de agentes químicos ou físicos, que atuando sôbre a resistência natural a diminuíssem tornando favorável o organismo ao desenvolvimento da ação patológica dêsses elementos.

Ao grupo dêsses agentes patogênicos poderiam pertencer os causadores dos tumores humanos os quais sendo específicos sòmente para o homem e com fraco poder infeccioso, não nos permitiria reproduzir a moléstia e manimais os homens hígidos, por ainda desconhecermos e não controlarmos tôdas as condições necessárias à diminuição de resistência do organismo e ao desenvolvimento da patogenicidade dêsses elementos.

CONCLUSÕES

1) Há provas experimentais incontestes, que fatôres que atuam sôbre a célula, modificando seu equilíbrio núcleo-plasmático ou as condições existentes no seu citoplasma, podem determinar divisões celulares.

2) Os virus indutores de multiplicações celulares, provàvelmente, devem a sua propriedade de citocinese às perturbações que sua presença e crescimento produzem no interior celular.

3) Há grandes pontos de contacto entre os virus citocinéticos e os gens (atividade indutora de multiplicações celulares, sensibilidade

às radiações ultravioleta e X que modificam a ação dos mesmos, semelhança de substâncias químicas identificadas em ambos).

4) As lesões dos tumores humanos apresentam muitas semelhanças com as encontradas em tumores de outros animais e provocadas por virus citocinéticos.

5) Aventou-se a hipótese da possível existência de agentes patogênicos situados entre os virus citocinéticos conhecidos e os gens, possuindo debil poder infeccioso pelo que exigem condições de terreno excepcionalmente favoráveis para atuar e sendo possuidores de elevado poder citocinético, poderiam ser os responsáveis pelas multiplicações anormais encontradas nos tumores neoplásicos humanos.

RESUMO

Após terem sido apreciadas, à luz de fatos experimentais, as principais causas determinantes das multiplicações celulares normais e aquelas responsabilidades pelas multiplicações anormais, encontradas nos tumores blastomatosos, foram analisados os tumores animais que reconhecidamente são causados por virus tais como: o sarcoma e o epitelioma das galinhas; o papiloma e o mixoma dos coelhos; os carcinomas de ratos e rãs, e finalmente, o papiloma oral e o linfo-sarcoma venéreo dos cães.

Em seguida, foram focalizadas as várias propriedades em comum existentes entre os virus indutores dêsses tumores como: capacidade de determinar multiplicações anormais nos tecidos atacados; elevada especificidade para as espécies sensíveis; existência de diminuição do poder infeccioso à medida que aumenta a capacidade de estimular a formação de tumores e, as afinidades existentes entre êles e os gens, principalmente àquelas referentes à sensibilidade aos raios X.

Finalmente, foi aventada a hipótese da possível existência de elementos patogênicos ainda não identificados, situados entre os virus citocinéticos conhecidos e os gens, com poder infeccioso mínimo, exigindo por isso, condições de susceptibilidade ainda não totalmente conhecidas e controladas, possuidores de elevado poder de induzir multiplicações anormais nos tecidos atacados e possìvelmente responsáveis pelos tumores neoplásicos humanos.

ABSTRACT

After being analysed, upon experimental facts, the principal determinant causes of the normal cellular multiplication, and of the abnormal, found in the tumors, were studied the animal tumors caused by viruses like chicken sarcoma and epithelioma, rabbit, papiloma and infectious myxomatosis, rat and frog carcinoma and also oral papiloma and venereal lympho-sarcoma of dog.

After words there was focused the various common properties existing between the induction viruses of such tumors like that of

abnormal cellular multiplication in the attacked tissues, high specificity for the sensible species, reduction of their infectious power at same time enhancing the capacity of tumor formation and the existing affinities between them and the gens, specially those related to the X ray sensitiveness.

Finally the A. formulated the hypothesis of a third pathogenic element between the cytocynetic virus and the gens, with a mild infectious power, acting only when special condition of susceptibility is present, which is not yet tottaly known nor controlled such element should be the responsible for the human neoplastic tumors.

Author's Abstracts.

BIBLIOGRAFIA

1 — ANDREWS, C. H.
1934. Viruses in the relation to the aetiology of tumors. Lancet. 227 : 117.

2 — ARAGÃO, H. B.
O mixoma dos coelhos.
Memórias do Instituto Osvaldo Cruz. 20 : 25.

3 — ARAGÃO H. B.
O virus do mixoma no coelho do mato.
Memórias do Instituto Osvaldo Cruz. 38 : 93.

4 — BEADLE, G. W.
1931. A gene in maize for supernumerary cell divisions following meiosis. Cornell Agrc. Exp. Station. Memoir. 135 : 3-12.

5 — BITTNER, J. J.
1936. Some possible effects of Nursing on the mammary gland tumor incidence. Science. 84 : 162.

6 — BITTNER, J. J.
1942. The milk influence of breast tumor in mice. Science. 95 : 462.

7 — BORREL, A.
1903. Epithelioses infectieuses et epitheliomas. Ann. Inst. Pasteur. 17 : 81.

8 — BOVERI
1905. Zellen Studien. Über die abhängigkeit der Kerngrösse und Zellenzahl der Seeigellaruen von Chromosomenzahl der Ausgangzellen. Jenaische Zeitscher. Bd. 39.

9 — BRACHET
1922. Recherches sur la fécondation prematurée de l'oeuf d'Oursin. Arch. biol. 32.

10 — BRACHET, J.
1944. Embryologie chimique. Masson. Paris.

11 — BRIDGES, C. B.
1919. Specific modifiers of eosin eye color in drosophila melanogaster. J. Exp. Zool. 28 : 337.

12 — CHAMBERS, H. & SCOTT, G.
1925. On a growth promoting factors in tumor tissue. Brit. J. Exp. Path. 7 : 33.

13 — DALCQ
1923. Recherches sur la fécondation prematurée de l'oeuf d'Oursin. Arch. Biol. 33 : 75.

14 — DELLA VALLE
1912. La morphologia della cromatina dal punto di vista fisico. Arch. Zool. 6.

15 — DEMONBREUN, W. A. e GOODPASTURE, E. W.
1932. Infections oral papillomatosis of dogs. Am. J. Path. 8 : 43.

16 — DUSTIN, A. R.
1921. Declachement experimental dune onde cinétique par injection intraperitoneal de serum. C. R. Soc. Biol. 85 : 234.

17 — FAURE-FRÉMIET, E.
1924. L'oeuf de Sabellaria Alveolata. Arch. Anat. Micr. 20 : 211.

18 — FAURE-FRÉMIET, E.
1925. La cinétique du developpement. Presses Universitaires de France-Paris.

19 — FIRKET, J.
1947. Notions d'anatomo-pathologie humaine. Masson. Paris.

20 — GUTHERZ, S.
1925. Über vorzeitge Chromatinreinfung an physiologisch degenerieden. Säugeoozyten des frühen Waschstumperiode. Zeit. F. Mikr. Anat. Forsch. 2 : 1.

21 — GREENSTEIN, J. P.
1947. Biochemistry of Cancer. Acad. Press N. Y.

22 — HABERLANDT, G.
Über Zellteilungshormone und ihre Bezeihungen zur Wandtilung Befruchtung Parthenogenesis und Adventivembryonie. Biol. Zentralb. 42 : 145.

23 — KIDD, J. G.
1950. The pathogenesis and pathology of viral diseases. Columbia Univ. Press.

24 — LOEB, J.
1910. Über den autokatalischen Charakter der Kernsynthese bei der Entwicklung. Biol. Zentralb. Bd. 30.

25 — MAGARINOS TÔRRES, C. B.
1944. Sôbre a hiperplasia celular no mixoma infectuoso do coelho. Memórias do Instituto Osvaldo Cruz. 41 : 283.

26 — MATHEWS
1907. A contribution to the chemistry of cell-division maturation and fertilization. An. J. Physiol. 18 : 89.

27 — Cellular inheritance and Transformation. Biol. Review. 22 : 360.

28 — MORTON, J. J.
1947. The cancer problem. J. A. M. A. 135 : 15.

29 — MULLER, H. J.
1947. The gene. Proc. Roy. Soc. (London). 1 : 37.

30 — PHILIBERT, A.
1924. Virus cytotropes (virus filtrants-virus filtrables).
Ann. de Med. 16 : 283.

31 — RIVERS, T.
1939. Viruses and virus disease.
Lane Medical Lectures.
Stanford University Press. California.

32 — ROCHA LAGÔA, F.
1947. Considerações sôbre o mixoma dos coelhos e sua relação com os tumores humanos. A propósito da etiologia do cancer.
Brasil Médico. 51-52 : :.

33 — ROCHA LAGÔA, F.
1952. Modificação da virulência do virus do mixoma provocada pelos raios X.
Memórias do Instituto Osvaldo Cruz. 50 : 197.

34 — ROCHA LAGÔA, F. e EMERY TRINDADE, A.
1950. Estudos sôbre a organização enzimática do virus do mixoma I ação de alguns inhibidores de enzimas sôbre o virus do mixoma.
Anais do V Congresso Internacional de Microbiologia.

35 — ROCHA LAGÔA, *F.*, DUARTE, E. e VIANA, I.
1953. Sôbre a etiologia do sarcoma venéreo do cão.
O Hospital. 43 : 683.

36 — ROUS, P.
1946. Concerning the cancer problem.
American Scientist. 34 : 329.

37 — ROUS, P.
1936. The virus tumors and the tumor problem.
Ann. J. Cancer. 28 : 233.

38 — SCHRADER, F.
1944. Mitosis.
Columbia University Press.

39 — SHOPE, R. E.
1933. Infectious papillomatosis of rabbits.
J. Exp. Med. 58 : 607.

40 — SMITH, H. W. & CLOWES, G. H. A.
1924. The influence of carbon dioxide on the velocity of division of Marine eggs.
Am. J. Physiol. 68 : 183.

41 — STUTERVANT, A. H.
1929. The claret mutant type of drosophila simulans: a study of chromosome elimination and of cell-lineage.
Ztsch. Wiss. Zool. 135 : 323.

42 — STERN, *C.*
1936. During wich stage in the nuclear cycle to the gene produce their effects in the cytoplasm?
Am. Nat. 72 : 350.

43 — WRIGTH, S.
1941. The physiology of gene.
Physiol. Rev. 21 : 487.

44 — ZUR STRASSEN
1898. Über die Riesenbildung bei Ascariseneiren.
Arch. f. Ent. Med. B 17.

Fig. 1

Epitelioma das aves. Pinto apresentando tumor epiteliomatoso na cabeça.

Fig. 2

Aspecto histológico do tumor anterior visto com pequeno aumento Hiperplasia epitelial principalmente em torno das penas.

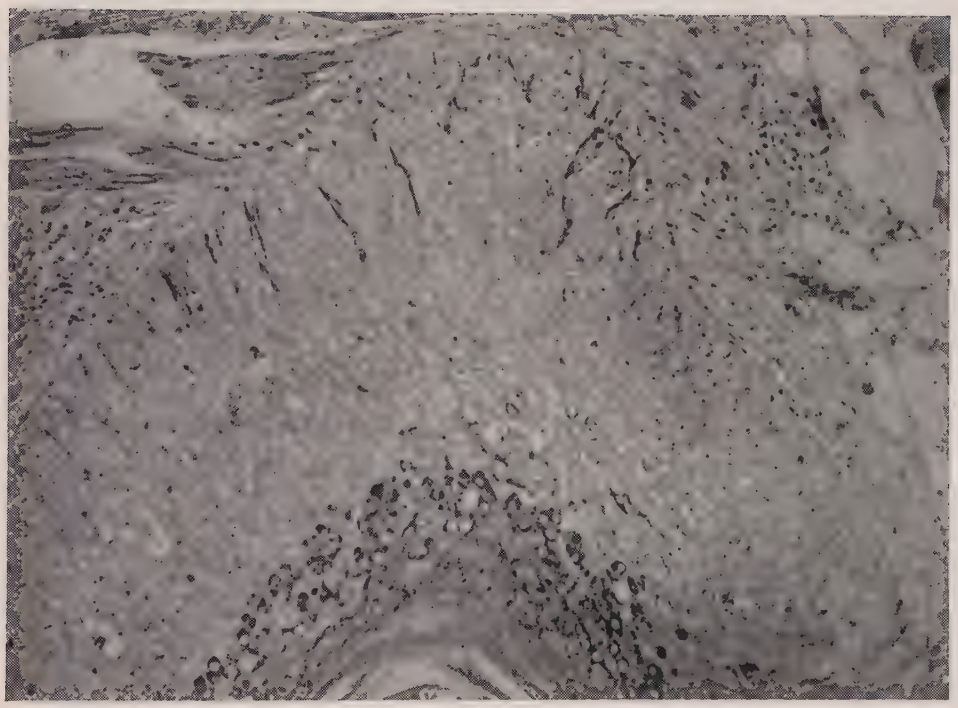


Fig. 3

Lesão anterior vista com grande aumento Hiperplasia epitelial e inclusões nucleares tipicas do virus do epitelioma das aves (corpúsculos de Bollinger).

Fig. 4

Mixoma dos coelhos. Aspecto de um grande tumor mixomatoso no dorso de animal injetado.

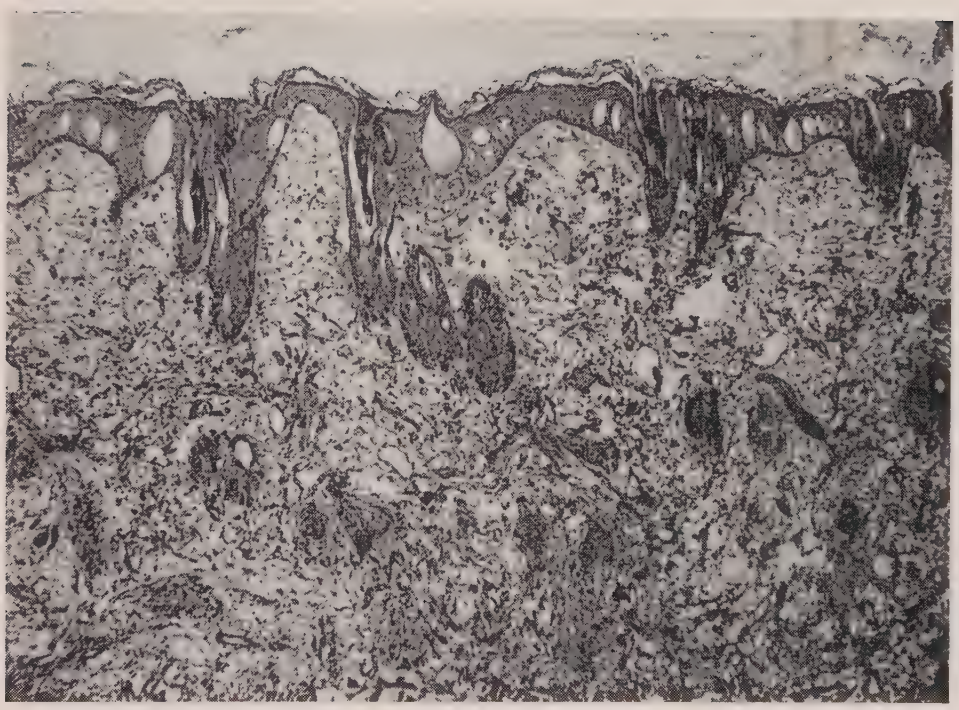


Fig. 5

Aspecto histológico do tumor anterior visto com pequeno aumento. Lesão mixomatosa externa do derma com zonas de necrose e espongiose.

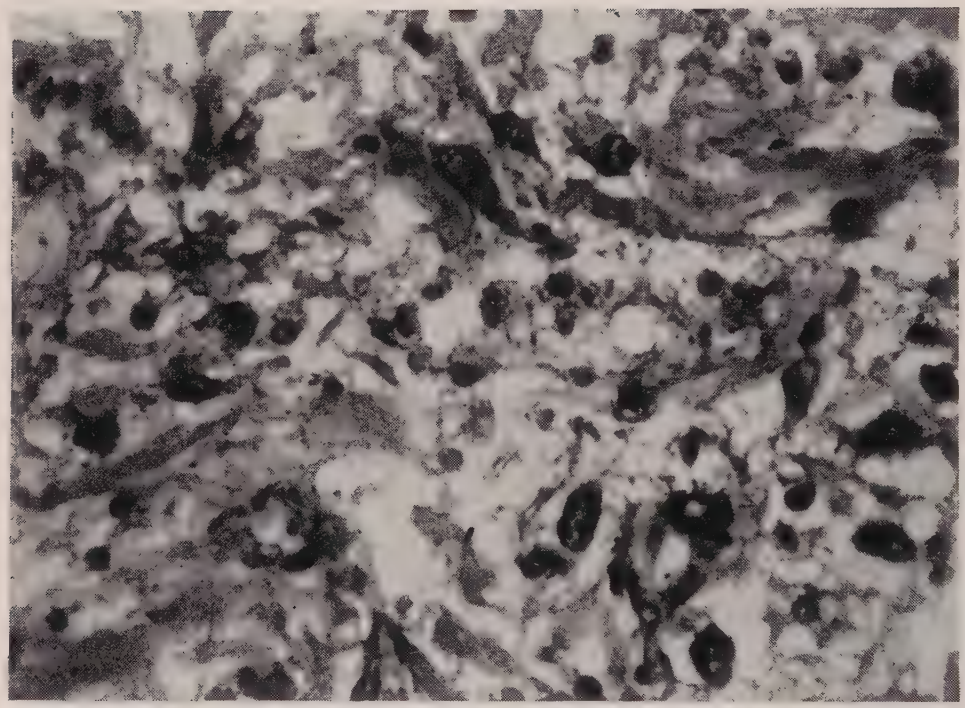
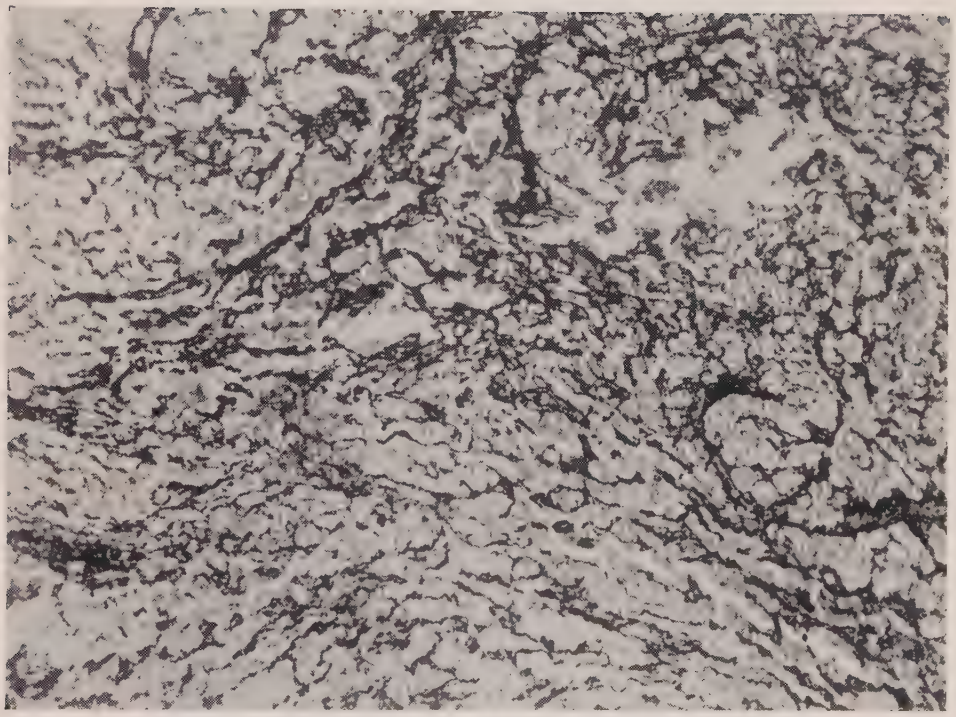


Fig. 6

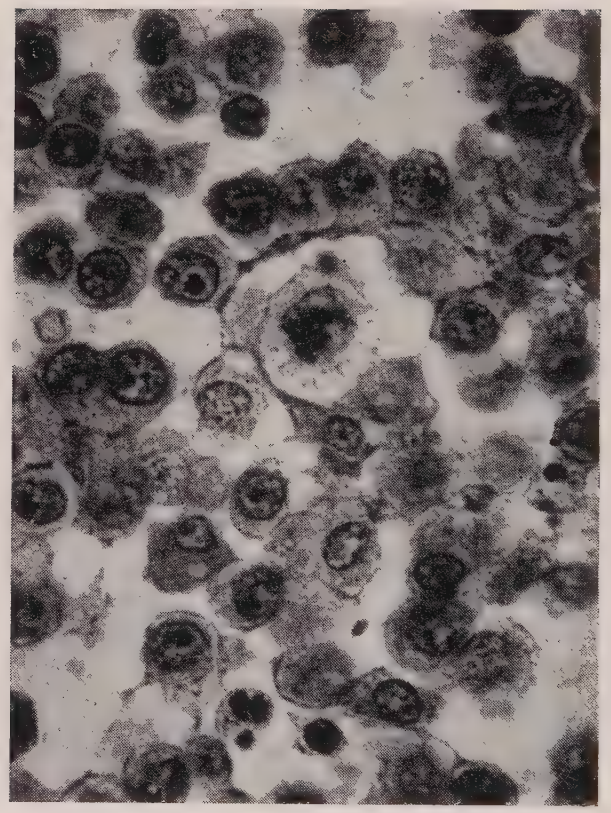
Mesma lesão anterior vista com grande aumento. Células conjuntivas (mixomatosas) apresentando hipercromatofilia e acentuado polimorfismo.

Sarcoma venéreo do cão. Tumor vegetante na vagina. Infecção expontanea.

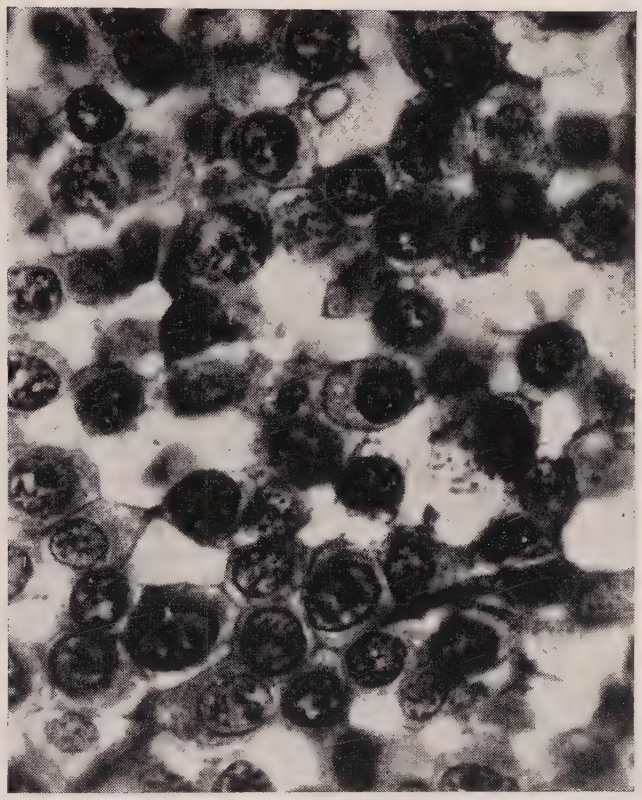
Aspecto histológico do tumor anterior visto com pequeno aumento. Extensa proliferação de células sarcomatosas, notando-se a integridade da mucosa.



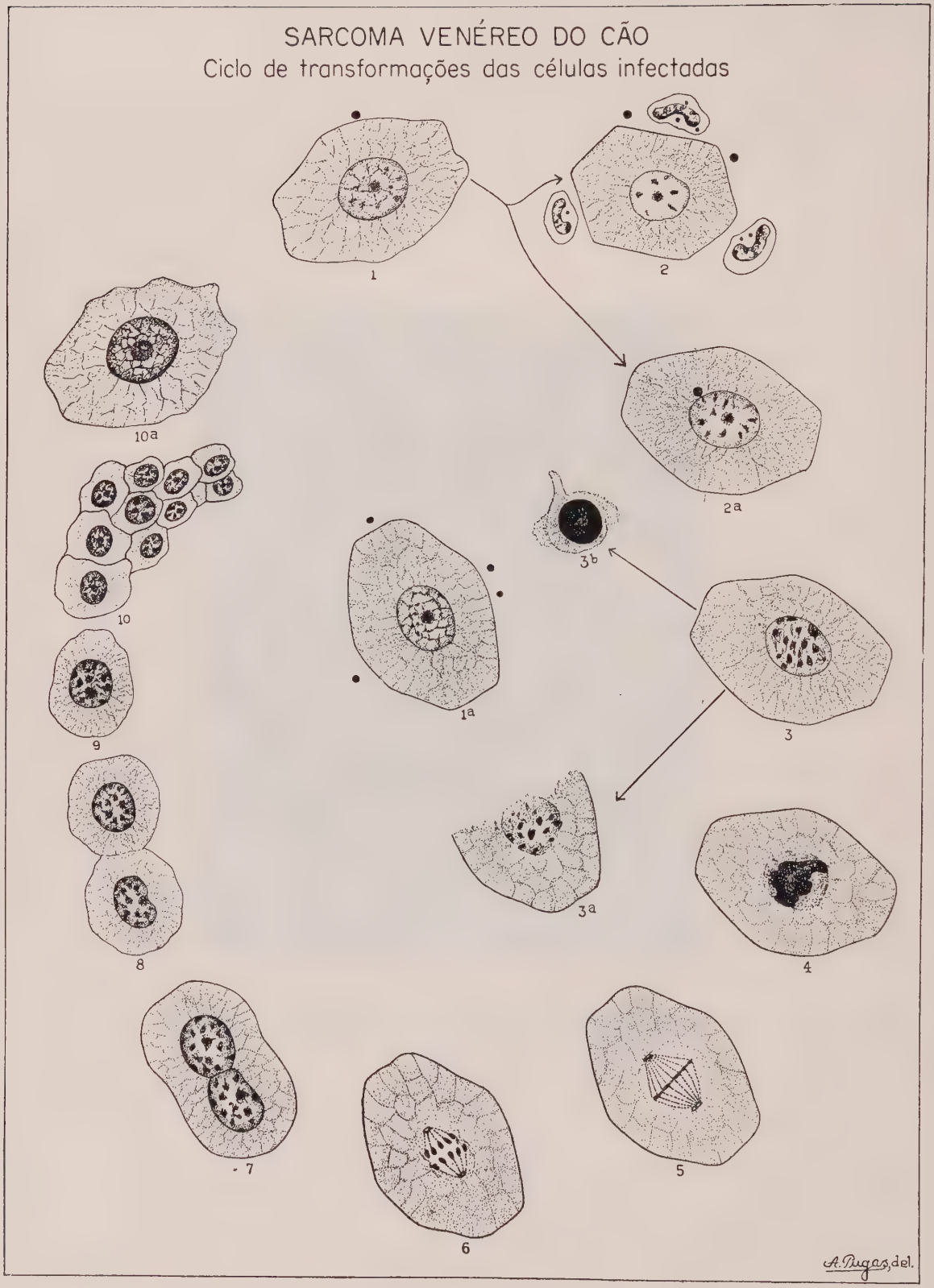
Mesmo material anterior corado pela prata, ressaltando a presença de retículos, característico típica dos linfo-sarcomas.



Lesão tumoral vista em imersão células sarcomatosas apresentando figuras em mitoses e em picnose.



Lesão tumoral vista em imersão outro aspeto de células sarcomatosas apresentando algumas figuras em mitose.



Esquema indicando o possivel ciclo do vírus no organismo infectado.

1 e 2 — células não sensíveis, (fagocitose vírus)
2 e 3 — células sensíveis infectadas
3 b. — célula infectada degenerada (picnose)
3 a. — célula infectada se desagregando e difundindo o vírus
4 a 9 — célula infectada em multiplicação anormal.
10 grupos de células sarcomatosas (tumor).

Estudos sôbre o complemento

1 — Ação das radiações de Roentgen e ultravioleta

pelo

Dr. F. Rocha Lagôa

As opiniões a respeito da ação dos raios X sôbre o complemento existente nos sôros recentes, são contraditórias. Alguns autores (7), (11), afirmam determinarem essas radiações inativações do mesmo, enquanto, para outros, nada ocorreria. (2).

Em relação à ação das radiações ultravioletas sôbre o complemento, tem sido assinalado, por vários (1), (3), (4), (6), determinaram os mesmos a sua inativação, divergindo no entanto as opiniões em relação às condições em que esta inativação se processaria e, no tocante à sensibilidade dos vários componentes do complemento a essas radiações (9), (8), (13).

Visando esclarecer os motivos desta diversidade de opiniões, procedemos a série de verificações abaixo transcritas:

MATERIAL E MÉTODOS

Como complemento empregamos sôro recente dos seguintes animais: cobaio, cão, homem, coelho, cavalo e boi, utilizando-o sob 3 formas: em natureza; sêco no vácuo; ou diluído a 1:10 em água fisiológica esteril, conforme indicação nos quadros. A atividade complementar dos sôros usados foi aferida em relação à atividade hemolítica demonstrada quando em presença de hemácias de carneiro, prèviamente sensibilizadas com imune sôro especifico. O sistema hemolítico utilizado foi constituído por hemácias de carneiro lavadas e diluídas na concentração de 2,5% em água fisiológica, as quais eram sensibilizadas 1 hora antes de serem utilizadas por um sôro hemolítico diluído de forma a conter 10 unidades hemolíticas por cada 1 ml da suspensão de hemácias.

As leituras da existência ou não de hemólise foram procedidas após incubação da mistura, durante 1 hora, em banho-maria a 37° C.

Como complemento sêco, denominamos o sôro recente com atividade complementar controlada, sêco no vácuo a baixa temperatura e assim conservado até o momento do uso, quando era refeito o seu volume original; como complemento puro, denominamos sôro recente "in

natura", sem diluições e como complemento diluído, chamamos sôro recente diluído a 1:10 em água fisiológica esteril.

Todo material irradiado foi sempre contido em pequenas placas de Petri de forma a oferecer 3 cms de superfície e 1 milímetro de espessura, sendo de quando em vez agitado. A temperatura durante a irradiação foi assegurada constante a + 10°C, por refrigeração permanente da placa onde êle se achava contido.

Os diversos componentes do complemento estudados, foram obtidos, os termo-lábeis, pelo processo de LIEFMANN, (corrente de Co^2 em água distilada gelada, após centrifugação, lavagem e suspensão em solução fisiológica da parte precipitada — fração globulina (C_1) — a fração albumina (C_2), não precipitada, teve sua isotônia restabelecida após eliminação do Co^2 e assim utilizada). As frações termo-estáveis, foram obtidas após um aquecimento em banho-maria a 56° durante meia hora que destruiu as frações termo-lábeis. Em seguida, destruiu-se o 3.° componente (C_3) quando se desejava obter puro o 4.° componente (C_4) e, destruindo-se o 4.° componente (C_4) quando se desejava obter puro o 3.° componente (C_3).

O método de destruição do 3.° componente (C_3) foi o do levedo (5) e do 4.° componente (C_4) pela ação da amônia (10).

O aparelho produtor de raios X empregado, foi um "Contactoterapia Phillips", gentilmente cedido, mediante empréstimo, pela Casa Lohner do Rio de Janeiro, a qual deixamos aqui os nossos agradecimentos.

Êsse aparelho, produz radiações com comprimento de onda de 0,247 Å, e na distância de 2 cms do material irradiado, que foi a empregada, sem filtros, forneceu um rendimento de 1.875 r., por minuto.

A fonte de radiação ultravioleta utilizada, foi uma lâmpada "Hanovia", emitindo radiações de 2.482 Å a 3.130 Å, com um máximo de intensidade em 2.537 Å, foi ela mantida sempre a 10 cms de distância do material irradiado que, como já foi dito, teve a constância da temperatura durante a irradiação assegurada.

RESULTADOS

Foi verificado que o complemento dos vários sôros utilizados revelaram idêntica sensibilidade tanto em relação às radiações ultravioletas como as de Roentgen.

O tempo necessário para a inativação pelas radiações ultravioletas é que variou, conforme o estado em que o complemento irradiado se achava; sêco, diluído a 1:10 ou sem diluição no sôro "in natura", conforme mostra o quadro I.

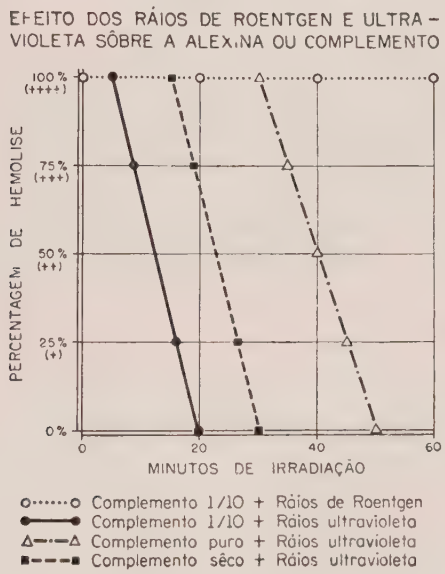
Todos os complementos submetidos aos raios X, sob temperatura constante de + 10° C, não revelaram alterações em sua atividade hemo-

lítica, mesmo após sofrerem irradiações durante 1 hora (112.500 r) — (Vêr quadro I).

Contràriamente a êsses resultados negativos, obtidos com os raios X, os complementos sujeitos às radiações ultravioleta foram todos inativados, em período que variou com o estado de concentração que se encontravam no material irradiado. Assim, diluídos a 1:10, foram êles inativados após 20' de irradiação, quando no sôro sêco ,em 30', quando no sôro normal, sem diluição, em 50'.

Êsses resultados nos indicam que a concentração do complemento existente normalmente no sôro sangüíneo é aquela que melhores condições de proteção oferece ao complemento contra a ação das radiações ultravioleta.

QUADRO I



Após verificação de que apenas as radiações ultravioletas inativam os complementos dos sôros dos animais estudados (cão, cavalo, homem, coelho, cobaio), procuramos determinar qual o componente complementar mais sensível a essas radiações e cuja destruição seria a responsável pela inativação do mesmo. Com êste fito, realizamos uma série de verificações conforme mostram os quadros III e IV. Que nos revelam ser a fração termo-labial do complemento à sensível às radiações ultravioletas, permanecendo as frações termo-estáveis íntegras, sem nenhuma alteração. Em seguida, verificou-se qual das frações termo-lábeis se destrói pela ação das radiações ultravioletas, sendo constatado ser a fração albumina (2.º componente, C_2) do complemento, a sensível, e

que o complemento assim inativado pode ser prontamente regenerado pela simples adição dêste seu componente (C_2), íntegro.

A seguir, procuramos ainda determinar se o componente do complemento (C_2) inativado pelos raios ultravioleta poderia ser substituído por idêntico componente íntegro, mas proveniente de animal pertencente a espécie diversa daquela fornecedora do complemento inativado, com êste objetivo realizamos uma série de experiências constantes nos quadros IV, V, VI, VII, VIII, IX e X, sendo verificado ser em alguns casos possível obter-se a regeneração da fração inativada (C_2) por idêntica fração íntegra, proveniente de animal de espécie diversa da fornecedora do complemento inativado. Assim a fração albumina (C_2) de cobaio, mostrou ser capaz de regenerar o complemento inativado pelos raios ultravioleta do próprio cobaio, do homem e do cão, o do coelho muito pouco. Mas o complemento de cobaio inativado por essas radiações, não é regenerado pela fração albumina de nenhum dêsses animais, o sendo sòmente, pelo C_2 do próprio cobaio.

A fração albumina do complemento humano, mostrou-se capaz de regenerar o próprio complemento humano, inativado pelos raios ultravioletas, e, os complementos inativados do boi e do cavalo não sendo, no entanto, o complemento humano inativado refeito pela adição da fração albumina (C_2) proveniente dêsses dois animais.

As demais frações albuminas (C_2) experimentadas, (coelho, cavalo, boi e cão) se revelaram capazes de regenerar apenas o complemento inativado pelas radiações ultravioleta dos próprios animais de onde provieram.

Seguem-se os quadros:

QUADRO II

ANIMAL	Complemento 1:10 unidade complementar empregada	Sistema hemolítico 10 u.2.5% h.	Resultados (testemunha) hemólise	Resultado após 20' ultravioleta hemólise
Cão	0,4	1	+ + +	—
Cavalo	0,5	1	+ + +	—
Homem	0,5	1	+ + +	—
Coelho	0,4	1	+ + +	—
Boi	1,0	1	+ + +	—
Cobaio	0,2	1	+ + +	—

QUADRO III

ANIMAL	Unidade complementar	Material submetido à Ultravioleta 30' hemólise	Regeneração da fração termolabil (C^3 e C^4 destruída) hemólise	Regeneração da fração termoestável (C^1 e C^2 destruída) hemólise
Cão	0,4	—	+ + +	—
Cavalo	0,5	—	+ + +	—
Homem	0,5	—	+ + +	—
Coelho	0,4	—	+ + +	—
Boi	1,0	—	+ + +	—
Cobaio	0,2	—	+ + +	—

QUADRO IV

ANIMAL	Unidade complementar inativada u.v.	Regeneração do complemento-Fração albumina (C^2) hemólise	Regeneração do complemento-Fração globulina (C^1) hemólise
Cão	0,4	+ + +	—
Cavalo	0,5	+ + +	—
Homem	0,5	+ + +	—
Coelho	0,4	+ + +	—
Boi	1,0	+ + +	—
Cobaio	0,2	+ + +	—

QUADRO V

ANIMAL	Unidade complementar inativada u.v.	Regeneração do complemento-Fração albumina (C^2) 0,4 de	Resultado hemólise
Cão	0,4	cão	+ + +
Cão	0,4	cobaio	+ + +
Cão	0,4	homem	—
Cão	0,4	cavalo	—
Cão	0,4	coelho	—
Cão	0,4	boi	—

QUADRO VI

ANIMAL	Unidade complementar inativada u.v.	Regeneração do complemento-Fração albumina (C^2) 0,5 de:	Resultado hemólise
Cavalo	0,5	cavalo	+ + +
Cavalo	0,5	cobaio	—
Cavalo	0,5	homem	+ + +
Cavalo	0,5	cão	—
Cavalo	0,5	coelho	—
Cavalo	0,5	boi	—

QUADRO VII

ANIMAL	Unidade complementar inativada u.v.	Regeneração do complemento-Fração albumina (C^2) 0,2 de:	Resultado hemólise
Cobaio	0,2	cobaio	+ + +
Cobaio	0,2	coelho	—
Cobaio	0,2	cavalo	—
Cobaio	0,2	homem	—
Cobaio	0,2	cão	—
Cobaio	0,2	boi	—

QUADRO VIII

ANIMAL	Unidade complementar inativada u.v.	Regeneração do complemento c/fração albumina (C^2) 0,5 de:	Resultado hemólise
Homem	0,5	homem	+ + +
Homem	0,5	cavalo	—
Homem	0,5	coelho	—
Homem	0,5	cobaio	+ + +
Homem	0,5	cão	—
Homem	0,5	boi	—

QUADRO IX

ANIMAL	Unidade complementar inativada u.v.	Regeneração do complemento c/fração albumina (C^2) 0,4 de	Resultado hemólise
Coelho	0,4	coelho	+ + +
Coelho	0,4	cavalo	—
Coelho	0,4	cobaio	+
Coelho	0,4	cão	—
Coelho	0,4	homem	—
Coelho	0,4	boi	—

QUADRO X

ANIMAL	Unidade complementar inativada u.v.	Regeneração do complemento c/fração albumina (C^2) 1,0 de:	Resultado hemólise
Boi 0	1,0	boi	+ + +
Boi	1,0	cavalo	—
Boi	1,0	cobaio	—
Boi	1,0	homem	+ + +
Boi	1,0	cão	—
Boi	1,0	coelho	—

CONCLUSÕES

Das verificações realizadas conclui-se que:

1) — A sensibilidade do complemento existente no sôro recente dos vários animais experimentados (cão, coelho, homem, cobaio, cavalo, e boi) as radiações de Roentgen e ultravioleta é idêntica;
2) — Os raios X não inativam o complemento de sôro mantido em temperatura constante (+ 10° C), durante a irradiação, enquanto que as radiações ultravioleta inativam o complemento em idênticas condições;
3) — A fração do complemento sensível às radiações ultravioleta é o seu segundo componente (fração albumina termo-labil, C_2);
4) — A regeneração da atividade do complemento inativado pelas radiações ultravioleta pode ser obtida pela adição de fração albu-

mina íntegra de outro componente não irradiado, que poderá ser proveniente de sôro de animal da própria espécie e, em alguns casos, oriundos de animais pertencentes a espécies diversas;

5) — A fração albumina do complemento de cobaio se mostrou capaz de regenerar os complementos inativados pelas radiações ultravioleta do próprio cobaio, do homem, do cão e parcialmente do coelho, não sendo no entanto o complemento de cobaio inativado nessas condições, regenerado pela fração albumina proveniente dos mesmos animais;

6) — A fração albumina do complemento humano, regenera o próprio complemento do homem, quando inativado pelas radiações ultravioleta, o do boi e do cavalo, não o sendo, no entanto, pela fração albumina proveniente do complemento dêsses dois animais.

SUMÁRIO

Foram procedidas verificações experimentais sôbre o complemento de vários animais (cão, coelho, cobaio, homem, cavalo e boi), visando se determinar a sensibilidade dos mesmos às radiações de Roentgen e ultravioleta.

Foi verificado que a temperatura constante de + 10° C, os complementos examinados, não apresentam modificações mesmo após terem sofrido a ação de 112.500 r. Outrossim, o mesmo não acontece quando são êles submetidos às radiações ultravioleta, a inativação que então se processa, varia em tempo de acôrdo com o grau de diluição do complemento no momento da irradiação. A seguir, se demonstrou que a fração complementar sensível a essas radiações é a fração albumina termolabil (segundo componente C_2).

Os complementos, assim, inativados podem readquirir as suas propriedades mediante a adição da fração albumina proveniente de complemento íntegro, não irradiado. A fração regeneradora pode pertencer a complemento de animal da mesma espécie, e, em alguns casos, a espécies diversas. Assim, a fração albumina do complemento de cobaio, se mostrou capaz de regenerar o complemento inativado do próprio cobaio, do homem, do cão e, parcialmente, o do coelho, não sendo, no entanto ,regenerado por frações albumina originárias de complementos de nenhum dos referidos animais. A fração albumina do complemento humano se revelou capaz de regenerar o próprio complemento humano, o do boi e do cavalo, não sendo, no entanto, regenerado pela fração albumina íntegra proveniente de complemento dêsses dois animais.

SUMMARY

Where realized experimental observations about some animals complements (dogs, rabbits,guines pigs, mens, horses and cows), verificated the action of roentgen radiations and ultraviolet radiations about than.

It was found that the studied complements in constant temperature of 10° C, were not destroyed by the roentgen radiations (112.500 r).

The same thing did not happen those submited under ultraviolet radiations, these were inactivitates. The time necessary for inativations, changes according with the degre of complements diluitions, when irradiateds.

It was found afterwords that the destroyed fraction is the albumin fraction (second component, C2). The complements so inativated might regenerate their properties by the adition of albumine fractions obtained of complements not irradiated. The regenerating fraction might belong to identical animals and some cases to animals of diferent species. The albumin fraction of guinea pig, complement regenerates the inativated complements of guinea pig, man, dog and partial rabbits, but it is not regenerated by the albumine fractions of their complements.

The albumin fraction of human complement regenerates the inativated complement of man, horse and cow, but it is not regenerated by the albumine fractions, of the last two animals.

BIBLIOGRAFIA

1 — ABELIN S. STINER O.
1913. Die Einwirkung der ultravioletten Lichtes auf Komplement des Merschweinchenserums.
Zeits. Immunitat. und Exp. Therap. Orig. 19 : I-8.

2 — BAERMAN. G. LINSSER P.
1904. Uber die lokale und allgemeine Wirkung der Rontgenstrahlen Munch. Med. Wochensch. 51 : 996-999.

3 — BARONI V. JONESCO-MITHAESTI C.
1910. Sur la destruction par les rayons ultraviolets des principes actifs des serums normaux et preparés.
C. Rend. Soc. biol. 68 : 393-395.

4 — BRANN G.
1925. Beitrage zur Wirkung der Rontgen-Radium, un Ultravioletstrahlen. auf Komponenten der Wassrmanschen Reaktion.
Zeitschr. Immunitat. und Exp. Therap. Orig. 44 : 27-32.

5 — COSTA CRUZ J. AZEVEDO -ENNA H.
1932. Ação do formol sôbre a alexina da cobaia. Mem. Inst. Osvaldo Cruz. 26 : 85-97.

6 — COURMONT P. DUFORT A.
1913. Disparition de l'alexine des sérums par les rayons ultraviolets.
C. Rend. Soc. Biol. 74 : 1152-1153.

7 — FRANKEL E.
1912. Der einfluss der Rontgenstrahlen auf das hamolytische Komplement, des Merschweincheserum.
Berl. Klin. Wochensch. 49 : 2030-2032.

8 — FRIEDBURGER E. SCIMONE V.
1923. Zur Wirkung der ultraviolettenstrahlen auf Antikorper, Antigene auf die Komponenten der Wassermannschen Reaktion.
Z. Immunirersch. 37 : 341.

9 — FRIEDBULGER E.
Neitere Versuche Uber ultravioletten Licht III Mitteilung.
Berl. Klin. Wochensch. 51 : 1402-1405.

10 — GORDON J. WITEHEAD H. R. WORMALL A.
1926. The action of amonia on complement. The fourth component.
Biochem. J. 20 : 1029-1935.

11 — SCAFFIDI V.
1915. Eifluse der Schuttelns, der ultraviolettenstrahlen und der Rontgenstrahlen auf das Komponent und hamolytischen Amboceptor.
Biochem. Zeitsch. 69 : 162-180.

12 — SCHUBERT J.
1928. Studien uber die ultraviolettenstrahlung von Tetanustoxin, Rizin hamolytischen Komplement un Fettsauren.
Zeitsch. Immunitat, und Exp. Therap. Orig. 58 : 106-122.

13 — SCHUBERT J.
1931. Komplementspaltung un Komplementwirkung.
Zentralb. Bakt. Orig. 122 : 82-86.

14 — ROCHA LAGÔA F.
1947. Ação dos venenos de serpentes brasileiras sôbre a alexina ou complemento.
Mem. Inst. Osvaldo Cruz. 4: : 441-449.

Varíola (Alastrim) no Paraguai

Controle do surto epidémico de 1947 em comparação com a febre tifoide, o tétano e a difteria

pelo

Dr. F. Rocha Lagôa

É conhecido o fato de que as guerras e os após guerras exercem imediata repercussão sôbre a incidência da varíola entre as povoações atingidas. (1)

A República do Paraguai, em 1947, foi alvo de violenta guerra civil, denominada "Revolución de Concepción", e não fugindo à regra, houve aumento imediato, entre a população do país, da incidência da varíola (alastrim).

No ano anterior ao da Revolução (1946), foram assinalados alguns casos da doença entre soldados. Nessa ocasião, o Dr. Magarinos Tôrres, que estava em Asunción, diagnosticou como Alastrim os casos que lhe foram apresentados, sendo o método de diagnóstico utilizado o indicado em seus trabalhos sôbre o assunto. (2)

Isolados os doentes e procedida a vacinação dos possíveis comunicantes, foi aparentemente debelada a epidemia iniciada.

Ocorrendo alguns meses após a grande revolução de Concepción, houve grandes deslocamentos da população não vacinada com penetração de elementos civis nos meios militares, onde possìvelmente a ainda existência do virus foi a causa da eclosão da epidemia, que sòmente em 1947, determinou a comunicação às autoridades sanitárias do país de 2.328 casos em uma população de cêrca de 1.000.000 de habitantes.

Chegamos ao Paraguai em princípios de 1948, com a missão de organizar a Secção de Microbiologia do Instituto de Higiene de Asunción, encarregada do estudo e do preparo de vacinas contra doenças infecciosas. Como grassasse no momento, epidêmicamente, a varíola (alastrim), fizemos vir para combate imediato da epidemia, vacinas anti-variólicas preparadas no Instituto Osvaldo Cruz do Rio de Janeiro, que foram imediatamente utilizadas, enquanto preparávamos a nossa vacina também com virus vacinal brasileiro.

Com a colaboração do eminente sanitarista paraguaio, Dr. Emílio Velilla, chefe do Departamento de Epidemiologia do Ministério de Salud Pública, foram iniciadas as vacinações em massa da população exposta, utilizando-se para isto as unidades sanitárias disseminadas nos Diversos Departamentos que constituem o país.

Os benefícios dessas medidas sanitárias foram imediatos, diminuindo sensìvelmente o número de casos de varíola (alastrim) que durante todo o ano de 1948 não chegaram a atingir 1.500, para em 1949 não passar de 150 casos, cifra esta idêntica à aquela existente em 1946, antes da epidemia, conforme poderemos vêr no gráfico n.º VIII.

Passados já alguns anos do início da vacinação sistemática e intensiva da população paraguaia pela vacina por nós preparada com o virus vacinal brasileiro, que continuou a ser produzida, após nosso regresso do Paraguai (julho de 1949), pelo nosso discípulo paraguaio Dr. Carlos Castillo, pareceu-nos de interêsse proceder a uma avaliação estatística do resultado da mesma, para o que solicitamos a cooperação do "Ministério de Salud Pública" do Paraguai, que nos enviou, prontamente, todos os dados solicitados. Os mesmos podem ser fàcilmente avaliados através da apreciação dos quadros abaixo, que nos mostram não só ter sido controlado o surto epidêmico iniciado em 1947, como também a existência de uma progressiva e significativa diminuição da incidência da febre tifoide no país, graças à vacinação intensiva e sistemática que vem sendo procedida com vacinas anti-tíficas, também por nós ali preparadas. Vê-se ainda pelos mesmos quadros, que as incidências do tétano e da difteria, na população paraguaia, continuam pràticamente, sem modificações significativas, visto não ter sido procedido contra essas doenças o mesmo plano de vacinação intensiva executado contra as duas moléstias anteriores.

O virus causador da epidemia de 1947, não foi identificado na ocasião, por falta de elementos para tal, mas considerando-se o diagnóstico histopatológico anterior, procedido pelo Dr. Magarinos Tôrres e a evolução clínica sempre benigna assinalada em todos os casos, é provável ter sido êle o virus do alastrim e não o da varíola vera.

O gráfico número I, mostra-nos um mapa do Paraguai onde se representa, convencionalmente, a densidade de sua população.

O gráfico número II, nos mostra um mapa do Paraguai, onde se vêm assinaladas as unidades sanitárias existentes no país e que foram utilizadas para realizações das imunizações aqui referidas e para o levantamento dos dados estatísticos a que se refere o presente estudo.

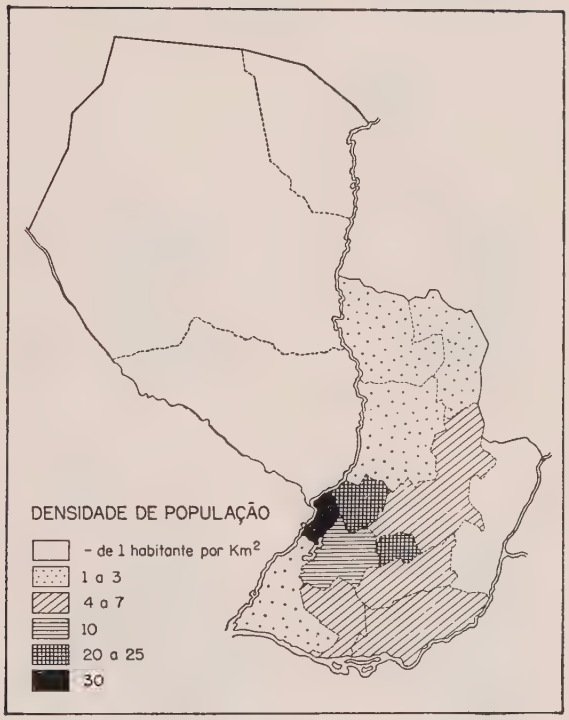
Verificamos pelos gráficos III, IV, V, VI e VII referentes respectivamente aos anos de 1946, 1947, 1948, 1949 e 1950, quais as áreas de distribuição e incidências durante êsses períodos das seguintes moléstias: varíola, alastrim, febre tifoide, tétano e difteria.

No gráfico número VIII, vemos a representação, feita em barra, do número de casos assinalados das seguintes moléstias durante os anos de: 1946, 1947, 1948, 1949 e 1950: varíola, febre tifoide ,tétano e difteria.

Finalmente no gráfico número IX, temos a representação, em doses, das vacinações realizadas durante os anos de: 1946, 1947, 1948, 1949 e 1950.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

GRÁFICO I

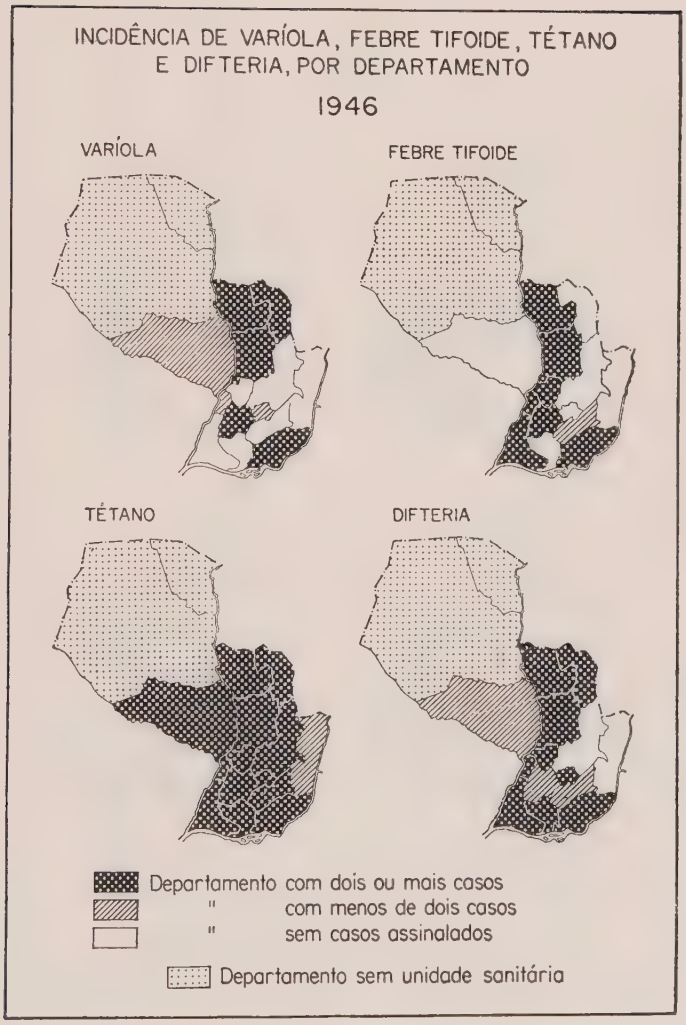


Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

GRÁFICO II

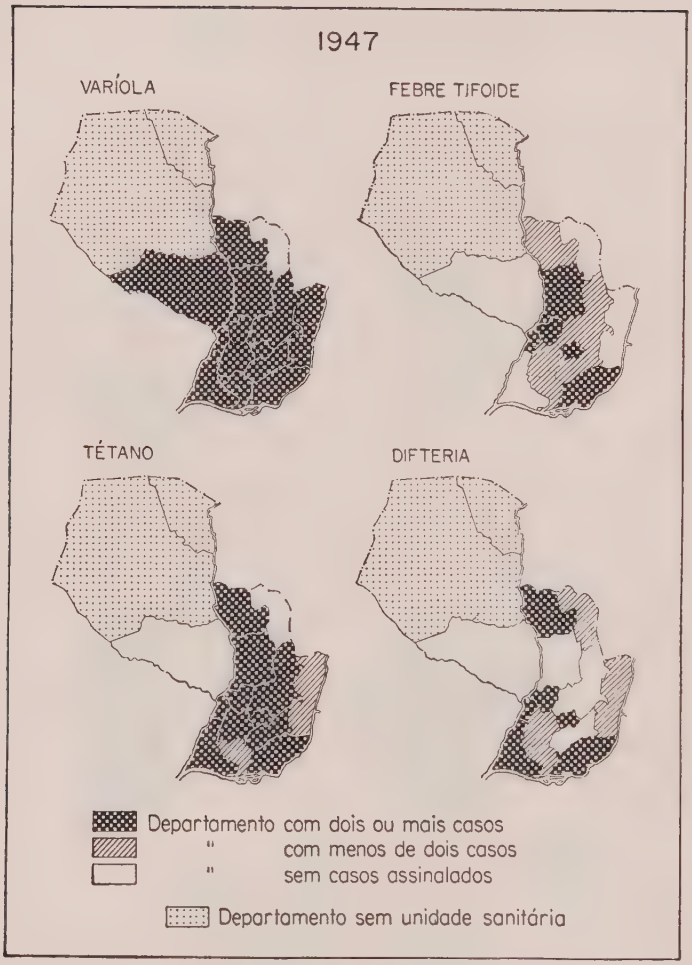
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

GRÁFICO III



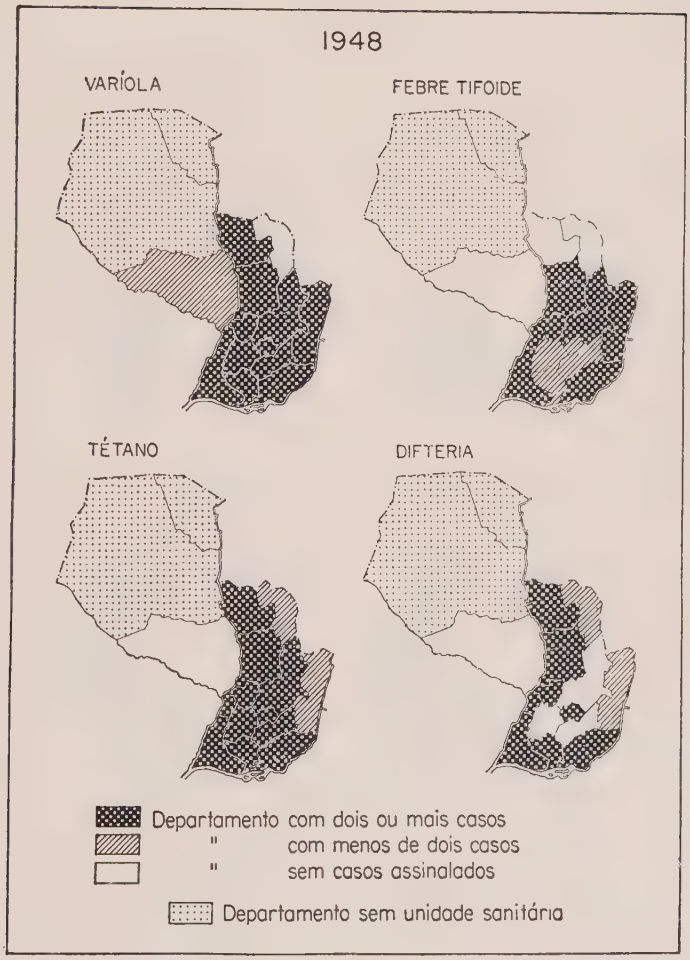
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

GRÁFICO IV



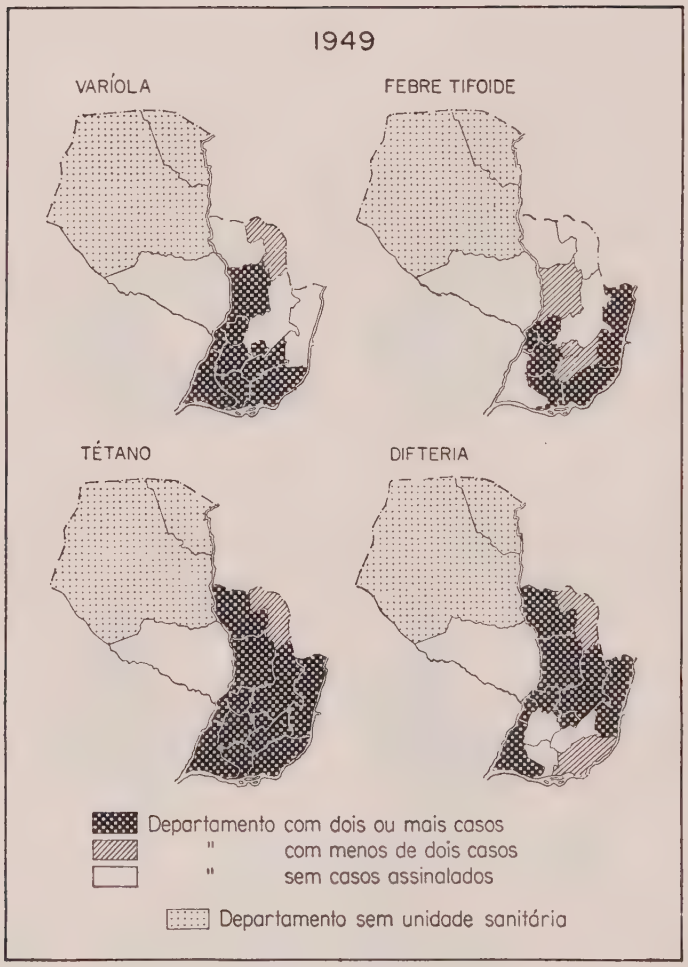
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

GRÁFICO V



Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

GRÁFICO VI



Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 51, 1953

GRÁFICO VII

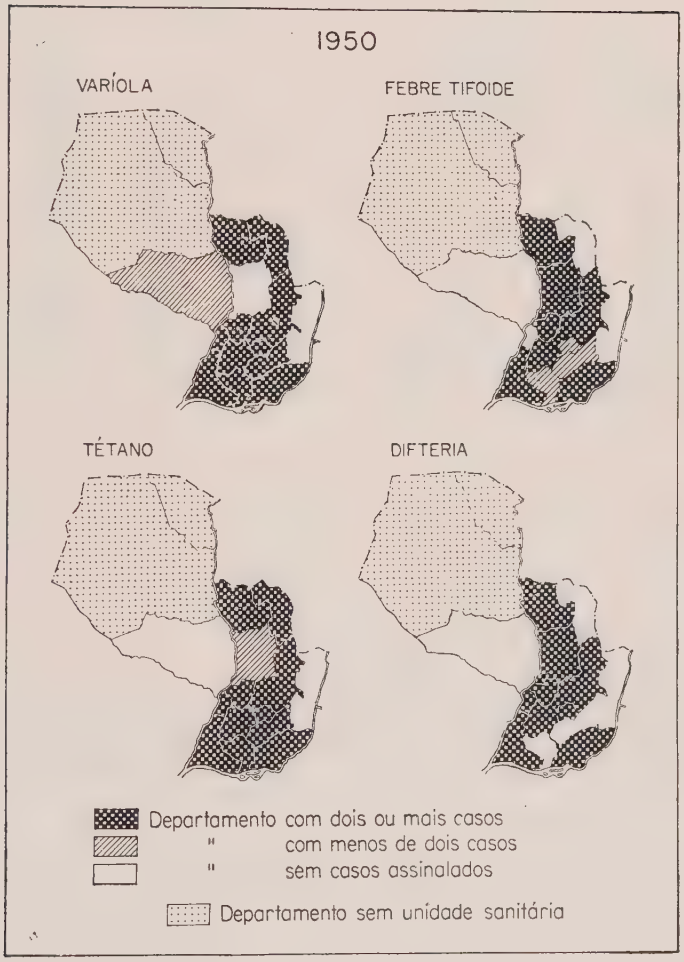


GRÁFICO VIII

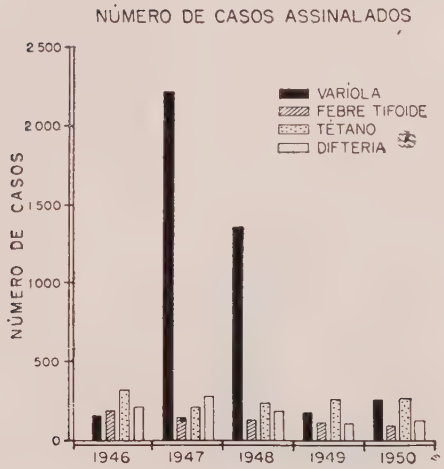
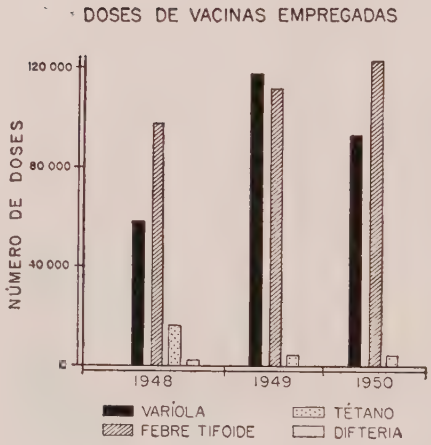


GRÁFICO IX



CONCLUSÕES

1 — A vacina por nós preparada com o virus vacinico do Instituto Osvaldo Cruz, revelou possuir poder protetor efocaz contra o virus determinante da epidemia que em 1947 grassou no Paraguai, (alastrim ou varíola) não tendo ocasionado mesmo após 4 anos de uso intensivo, nenhum acidente post-vacinal.

2 — O plano de imunização em massa, executado pelo Ministério de "Salud Publica" do Paraguai, através das unidades sanitárias existentes no país, as quais têm sua distribuição condicionada à densidade demográfica, da população, mostrou-se de grande eficiência, permitindo controlar completamente o surto epidêmico iniciado em 1947.

3 — As vacinações anti-tíficas e antiparatíficas, que vem sendo executadas no Paraguai através das mesmas unidades sanitárias, continuam a fazer decrescer, progressivamente, a incidência da febre tifoide no Paraguai.

O mesmo no entanto não acontece em relação ao tétano e à difteria, que continuam com idêntica incidência aos anos anteriores, visto não ter sido executado o plano de vacinação elaborado contra as mesmas.

Smallpox (Alastrim) in Paraguay

Control of the 1947 Epidemic as Compared with Typhoid Fever, Tetano and Diphtheria.

by

Dr. F. Rocha Lagôa

It is known that in wartime and in postwar periods smallpox tends to spread among the people living in those areas. (1)

The Republic of Paraguay in 1947 was the theater of a violent civil war, later called the "Revolution de Conception", and according to that rule Paraguayans suffered a sudden increase of the incidence of smallpox (alastrim).

Only in 1947 the coutry's sanitation officials were informed of its existence when there were already 2.328 cases amongst a population of approximately one million people.

Arriving in Paraguay at the beginning of 1948, carrying instructions to start the Microbiology Department of the "Instituto de Higiene de Asunción" which would eventually study and prepare vaccines against the comunicable diseases (smallpox, alastrim, typhoid fever, tetanus and diphtheria) largely spread at the moment, and in order to immediately start a campaign against the epidemics, we sent for smallpox vaccines from Instituto Osvaldo Cruz of Rio de Janeiro, preparing at the same time our own vaccines also made up, with virus received from Brazil.

With the collaboration of the distinguished Paraguayan sanitarian, Dr. Emilio Velilla, Head of the Department of Epidemiology of the Ministry of Public Health, we began a mass vaccination of everyone exposed to the disease, in all the clinics, in every department of the country.

The benefits derived from these sanitary measures were apparent when smallpox cases decreased, so much so that in 1948 their number dropped to less than 1500, and finally came down to 150 cases, i. e., the same number of cases known to exist in 1946 before the outbreak of the epidemic, as shown in Fig. n.º VIII.

A few years have gone by since the population of Paraguay was systematically and intensively vaccinated with vaccines prepared from virus especially sent down from Brazil, and later after we left Paraguay

in 1949 made up by our distinguished pupil in that country, Dr. CARLOS CASTILLO. It is interesting to note from the statistical data we requested and which we promptly received from the Ministry of Public Health of Paraguay, the excellent results obtained. It can be seen in the figure below not only that the outbreak of the epidemic that started in 1947 was under control, but also that there was a gradual and significant decrease of the incidence of typhoid fever in the country thanks to the regular and intensive vaccination against typhoid fever with vaccines prepared by us while visiting that country. It is also shown in the same figure that the occurrance of tetanus and diphteria amongst the Paraguayans has practically suffered no substantial changes because no plan was ever carried out to fight these diseases as the one of general vaccination of the people against smallpox and alastrim.

The virus responsible for the 1947 epidemic was not identified at that time because of lack of means to do so, but taking into consideration the hispathological diagnosis previously made by Dr. MAGARINOS TÔRRES, as well as the clinical development and the ever mild character observed in all cases, one can assume that it was the alastrim virus and not the real smallpox virus.

CONCLUSIONS

1 — Vaccines prepared with the Brazilian virus from Instituto Oswaldo Cruz have shown to be efficient and to have a protecting power against the virus which caused the 1947 epidemic in Paraguay (alastrim and smallpox), and the after four years of regular application no post-vaccination accident was ever reported.

2 — The plan for a general immunization of the people carried out by the Ministry of Public Health of Paraguay through its several departments of sanitation which were created in accordance with the density of the population proved to be very efficient since the 1947 outbreak of the epidemic was perfectly controlled.

BIBLIOGRAFIA

1 — La variole dans le monde pendant et après da Deuxième guerre mondiale. Chronique de la O.M.S. 2 : 297. 1948.

2 — MAGARINOS TÔRRES, C. B.
Método para o diagnóstico do alastrim.
Mem. Instituto Osvaldo Cruz. 32 : 543. 1937.